

肥料研究報告

第6号

2013年

Research Report of Fertilizer

Vol. 6
2013



独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
Food and Agricultural Materials Inspection Center
(Incorporated Administrative Agency)

Saitama, Japan

はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)は肥料取締法に定められている肥料の登録及び仮登録の申請に関する業務、肥料事業者等への立入検査に関する業務、肥料公定規格の設定等に関する業務と、地力増進法に定められている土壌改良資材の立入検査業務等を行っております。

肥料は肥料取締法で定められた保証成分の適正な管理のため一定水準の分析の精確さが求められています。特に近年は肥料原料の高騰から汚泥など未利用資源の肥料への利用拡大が進んでおります。しかしながら、汚泥肥料には有害な重金属を含有する恐れがあるため、安全な肥料としての流通を確保するために検査・分析の比重がより高まっております。

「肥料研究報告」は、日進月歩する分析機器を導入して迅速・効率的な分析法の開発と妥当性の検証、既存の方法の性能調査、肥料由来の有害成分の土壌中での挙動や作物への吸収、全国肥料品質保全協議会と共同での精度管理試験など、日頃の業務の中から見いだされた課題に検討を加え、得られた知見を取り纏めたものです。今般、平成24年度に得られた成果を中心に収録した第6号を発行いたしましたので、関係各位の業務の参考にしていただくと共に、お気付きの点がありましたらご指摘いただければ幸いです。

2013年11月

独立行政法人農林水産消費安全技術センター
理事長 木村 真人

肥料研究報告 第6号

- 2013 -

目次

<試験法等の検討及び妥当性確認>

- 1 シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定 -ふっ化カリウム法の適用-
..... 清水 昭 1
- 2 燃焼法による汚泥肥料及びたい肥中の有機炭素の測定
..... 矢野愛子, 秋元里乃, 白井裕治 9
- 3 硫黄及び硫黄化合物を含む肥料中の硫黄分全量測定 -透過光測定法の適用-
..... 杉村 靖 20
- 4 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法による肥料中のメラミン及びその関連物質の同時測定
..... 坂東悦子, 白井裕治 27
- 5 化成肥料中の硝酸化成抑制材 1-アミジノ-2-チオ尿素の測定 -共同試験成績-
..... 甲斐茂浩, 渡部絵里菜 36

<調査・試験業務>

- 6 カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響(続報)
..... 廣井利明, 惠智正宏, 山西正将, 阿部文浩 43

<試験成績の信頼性確保関連>

- 7 2012年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析
..... 舟津正人, 渡部絵里菜, 阿部 進, 白井小枝, 稲葉茂幸,
八木啓二, 白井裕治, 上沢正志 61
- 8 2012年度 肥料認証標準物質の開発 -汚泥発酵肥料 FAMIL-C-12 の調製-
..... 秋元里乃, 廣井利明, 八木寿治, 顯谷久典, 舟津正人,
矢野愛子, 坂東悦子, 藤田真理子, 白井裕治, 柴田政人 84
- 9 2012年度 肥料認証標準物質の開発 -高度化成肥料 FAMIL-A-10 及び普通化成肥料
FAMIL-B-10 の長期安定性評価-
..... 稲葉茂幸, 秋元里乃, 木村康晴, 藤田 卓, 神川孝文,
五十嵐総一, 伊藤浩平, 廣井利明, 白井裕治 101

<ノート>

| | | | |
|----|-------------------------------|------------------------|-----|
| 10 | コマツナの生理障害 -りん酸- | 藤田 卓 | 117 |
| 11 | アンモニア性窒素試験法の性能調査 -蒸留法- | 加藤公栄, 千田正樹, 渡部絵里菜 | 130 |
| 12 | アンモニア性窒素試験法の性能調査 -ホルムアルデヒド法- | 加藤公栄, 千田正樹, 渡部絵里菜 | 139 |
| 13 | 硝酸性窒素試験法の性能調査 -フェノール硫酸法- | 加藤公栄, 千田正樹, 渡部絵里菜 | 148 |
| 14 | 亜鉛試験法の性能調査 -フレイム原子吸光法- | 阿部 進, 須永善行 | 156 |
| 15 | 銅試験法の性能調査 -フレイム原子吸光法- | 阿部 進, 須永善行 | 165 |
| 16 | ほう素試験法の性能調査 -アゾメチン H 法- | 清水 昭 | 174 |
| 17 | 石灰及びカルシウム試験法の性能調査 -フレイム原子吸光法- | 五十嵐総一, 木村康晴 | 183 |
| 18 | 苦土試験法の性能調査 -フレイム原子吸光法- | 五十嵐総一, 木村康晴 | 193 |
| 19 | マンガン試験法の性能調査 -フレイム原子吸光法- | 八木啓二, 豊留夏紀, 鈴木時也, 添田英雄 | 203 |

<資料>

| | | | |
|----|-------------------------|--|-----|
| 20 | 2012 年度輸入肥料等の品質調査結果について | 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部 調整指導官及び肥料管理課 | 213 |
|----|-------------------------|--|-----|

Research Report of Fertilizer Volume 6

– 2013 –

Index

<Development and Validation for Determination Methods>

- 1 Method Validation of Potassium Fluoride Method for Determination of Acid-Soluble and Base-Soluble Silicic Acid in Fertilizer containing Silica Gel
..... Akira SHIMIZU 1
- 2 Determination of Organic Carbon in Sludge Fertilizer and Compost by Hydrochloric Acid-Treated Combustion Method
..... Aiko YANO, Satono AKIMOTO and Yuji SHIRAI 9
- 3 Method Validation of Turbidimetry for Determination of Sulfur Content (as Sulfur Trioxide) in Fertilizers of Sulfur, Sulfuric acid and Its Mixture
..... Yasushi SUGIMURA 20
- 4 Validation of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) for Determination of Melamine and Its Related Substances in Fertilizer
..... Etsuko BANDO and Yuji SHIRAI 27
- 5 Determination of 1-Amidino-2-thiourea as a Nitrification Inhibitor in Compound Fertilizer by High Performance Liquid Chromatography: A Collaborative Study
..... Sigehiro KAI and Erina WATANABE 36

<Investigation and Research>

- 6 Effect of Continuous Application of Sludge Fertilizer on Cadmium Absorption of the Crop and Accumulation of Cadmium in the Soil (Continued Report)
..... Toshiaki HIROI, Masahiro ECHI, Masayuki YAMANISHI and Fumihiko ABE 43

<Assurance Practices for Reliable Analytical Data>

- 7 Result of Proficiency Testing for Determination of Major Components and Harmful Elements of Ground Fertilizers Conducted in Fiscal Year 2012
..... Masato FUNATSU, Erina WATANABE, Shin ABE, Sae SHIRAI,
Shigeyuki INABA, Keiji YAGI, Yuji SHIRAI and Masashi UWASAWA 61

| | | |
|--------|--|-----|
| 8 | Preparation of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major Components and Harmful Elements: Composted Sludge Fertilizer (FAMIC-C-12) Satono AKIMOTO, Toshiaki HIROI, Toshiharu YAGI, Hisanori ARAYA, Masato FUNATSU, Etsuko BANDO, Mariko FUJITA, Yuji SHIRAI and Masato SHIBATA | 84 |
| 9 | Long-term Stability Evaluation of Fertilizer Certified Reference Materials for Determination of Major Components and Harmful Elements: High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-10) and Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-10) Shigeyuki INABA, Satono AKIMOTO, Yasuharu KIMURA, Taku FUJITA, Takafumi KAMIKAWA, Souichi IGARASHI, Kouhei ITOU, Toshiaki HIROI and Yuji SHIRAI | 101 |
| <Note> | | |
| 10 | Physiological disorder of Komatsuna —Phosphorus— Taku FUJITA | 117 |
| 11 | Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Ammonia Nitrogen Content in Fertilizer by Distillation Method Kimie KATO, Masaki CHIDA and Erina WATANABE | 130 |
| 12 | Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Ammonia Nitrogen Content in Fertilizer by Formaldehyde Method Kimie KATO, Masaki CHIDA and Erina WATANABE | 139 |
| 13 | Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Nitrate Nitrogen Content in Fertilizer by Phenol Sulfuric Acid Method Kimie KATO, Masaki CHIDA and Erina WATANABE | 148 |
| 14 | Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Zinc in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry Shin ABE and Yoshiyuki SUNAGA | 156 |
| 15 | Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Copper in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry Shin ABE and Yoshiyuki SUNAGA | 165 |
| 16 | Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Boron Content by Azomethine H Absorption Photometry Akira SHIMIZU | 174 |

| | | |
|-----------------|--|-----|
| 17 | Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Calcium Content in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry Souichi IGARASHI and Yasuharu KIMURA | 183 |
| 18 | Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Magnesium Content in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry Souichi IGARASHI and Yasuharu KIMURA | 193 |
| 19 | Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Manganese Content in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry Keiji YAGI, Natuki TOYODOME, Tokiya SUZUKI and Hideo SOETA | 203 |
| < Information > | | |
| 20 | The report of the quality of fertilizer originating in imported by-product fertilizer in fiscal year 2012 IAI Food and Agricultural Materials Inspection Center Fertilizer and Feed Inspection Department Coordinator and Fertilizer Control Division | 213 |

1 シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定

—ふっ化カリウム法の適用—

清水 昭¹

キーワード 可溶性けい酸, ふっ化カリウム法, シリカゲル肥料, 肥料等試験法

1. はじめに

シリカゲル肥料は平成 15 年の普通肥料の公定規格改正¹⁾により, 化成肥料及び配合肥料の定義として「けい酸質肥料(シリカゲル肥料に限る)」が追加され, 含有すべき主成分の最小量(%)が「可溶性けい酸を保証するものにあつては可溶性けい酸 10.0」として設定された. また, 農林水産省告示²⁾には, 「可溶性けい酸とは, シリカゲルに由来するものにあつては 2 分の 1 モル毎リットルの水酸化ナトリウム(水酸化ナトリウム溶液(20 g/L))に溶けるけい酸(以下「アルカリ可溶性けい酸」という.)を, その他の原料に由来するものにあつては 2 分の 1 モル毎リットルの塩酸(塩酸(1+23))に溶けるけい酸(以下「酸可溶性けい酸」という.)をいう。」と規定された.

「シリカゲル肥料中の可溶性けい酸の測定」は, 過塩素酸法と比較してより迅速に定量できるふっ化カリウム法について単一試験室の妥当性確認³⁾及び共同試験⁴⁾を実施したところ満足する成績を得たので, 肥料等試験法⁵⁾に収載されている. 「シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸の測定」は, カルシウムの含有量の割合が大きい肥料の可溶性けい酸の定量値は設計値より低い値を示したことから, 水酸化ナトリウム溶液(20 g/L)で抽出する前に(塩酸(1+23))を加えて酸性で抽出することで抽出効率を改善し⁶⁾, 共同試験⁴⁾を実施したところ, 室間再現精度が大きく, 満足する成績が得られなかった. 共同試験参加試験室に聞き取り調査を実施したところ, 水酸化ナトリウム溶液(20 g/L)で溶解した後のろ過及び洗浄操作に熟練を要することが判明した.

このことから, ろ過操作をせずに直接水酸化ナトリウム溶液(20 g/L)で抽出する操作を検討し, その試験法について単一試験室における妥当性確認を実施したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

混合りん酸肥料(5 点), 化成肥料(7 点), 配合肥料(1 点)の計 13 点について, 目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉碎して分析用試料とした.

2) 試薬

(1) 標準水酸化ナトリウム溶液: 水約 30 mL をポリエチレン瓶にとり, 冷却しながら JIS K 8567 に規定する水酸化ナトリウム約 35 g を少量ずつ加えて溶かし, 密栓して 4~5 日間放置する. その上澄み液 5.5 mL を共栓保存容器にとり, 炭酸を含まない水 1,000 mL を加えた.

(2) ふっ化カリウム溶液: JIS K 8815 に規定するふっ化カリウム 58 g を水 1,000 mL に溶かした. (ふっ化カリウムは飲み込むと有毒であり, 水生生物に毒性があるため, 取り扱い後はよく手を洗うこと. また, 環境への放

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター (現) 肥飼料安全検査部

出を避けるように注意が必要).

(3) 塩化カリウム溶液: JIS K 8101 に規定するエタノール 250 mL を水 750 mL に加えて混合し, 塩化カリウム 150 g を加えて溶かした. 指示薬としてメチルレッド溶液 (0.1 g/100 mL) 数滴を加え, 溶液の色が赤色になるまで塩酸を滴下して酸性とし, 1 日間放置後 0.1~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で中和した.

(4) フェノールフタレイン溶液: JIS K 8799 に規定するフェノールフタレイン 1 g を JIS K8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かした.

3) 装置及び器具

- (1) 恒温水槽: ヤマト科学 Waterbath BM100 BM200
- (2) アスピレーター: AS ONE AS-01
- (3) 電動ビュレット: 京都電子工業 APB-620
- (4) 回転振とう機: 三喜製作所 RS-12

4) 試験操作

分析試料 1.00 g をはかりとり, トールビーカー 300 mL に入れ, 30 °C に調整した塩酸(1+23) 約 150 mL を加え, 30 °C ± 2 °C の水浴中で 10 分ごとにガラス棒でかき混ぜながら 60 分間加温した後, 全量フラスコ 250 mL を受器とし, ろ紙 6 種でろ過した. ろ紙上の不溶解物を水で洗浄してから標線まで水を加えた(以下試料溶液(1)とする.). ろ紙上の不溶解物はろ紙とともに, ポリエチレン製全量フラスコ 250 mL に入れて 65 °C に調整した水酸化ナトリウム溶液 (20 g/L) 約 150 mL を加え, 65 ± 2 °C の水浴中で 10 分ごとにふり混ぜながら, 60 分間加熱した. 室温まで放冷した後標線まで水を加え, ろ紙 3 種でろ過した(以下試料溶液(2)とする.).

試料溶液(1) 25 mL 及び試料溶液(2) 25 mL を同一のポリエチレン製ビーカー 200 mL にとり, 塩酸約 10 mL, ふっ化カリウム溶液約 15 mL 及び塩化カリウム約 2 g を加えてポリエチレン製の攪拌棒でかき混ぜて溶かし, 10 °C 以下の冷蔵庫で約 30 分間冷却した後, ポリエチレン製グーチャーつぼにろ紙 6 種及びろ紙くずを敷いて吸引ろ過し, 塩化カリウム溶液で 6~7 回洗浄した. ろ紙上の沈殿物はろ紙とともに水でトールビーカー 300 mL に移して水で約 200 mL とし, 70 °C ~ 80 °C に加熱した後直ちにフェノールフタレイン溶液 (1 g/100 mL) を数滴加え, 標準水酸化ナトリウム溶液 (0.1 mol/L) で溶液の色が淡赤色になるまで滴定し, 可溶性けい酸の量を算出した (Fig.1).

5) 試験操作の改良点

昨年度までの操作は, 塩酸(1+23)で抽出し, ろ紙 3 種でろ過した不溶解物をポリエチレンビーカー 300 mL にろ紙ごと移し, 水酸化ナトリウム (0.5 mol/L) 150 mL を加え, 65 °C ± 2 °C の水浴中で 10 分ごとにポリエチレン製棒でかき混ぜながらろ紙を崩壊させ 60 分間加熱を行い, ろ紙ごとろ紙 3 種で全量ろ過していた.

ろ紙を崩壊して 60 分間加熱を行い, ろ紙ごとろ紙 3 種でろ過する操作が, 全量ろ過しきれていないことが昨年度の共同試験で十分な結果が得られなかった原因と考えられた.

今年度は, 塩酸(1+23)で抽出しろ過する際のろ紙を 6 種にし, 不溶解物をろ紙ごとポリエチレン製全量フラスコ 250 mL に移し込む操作に改良した.

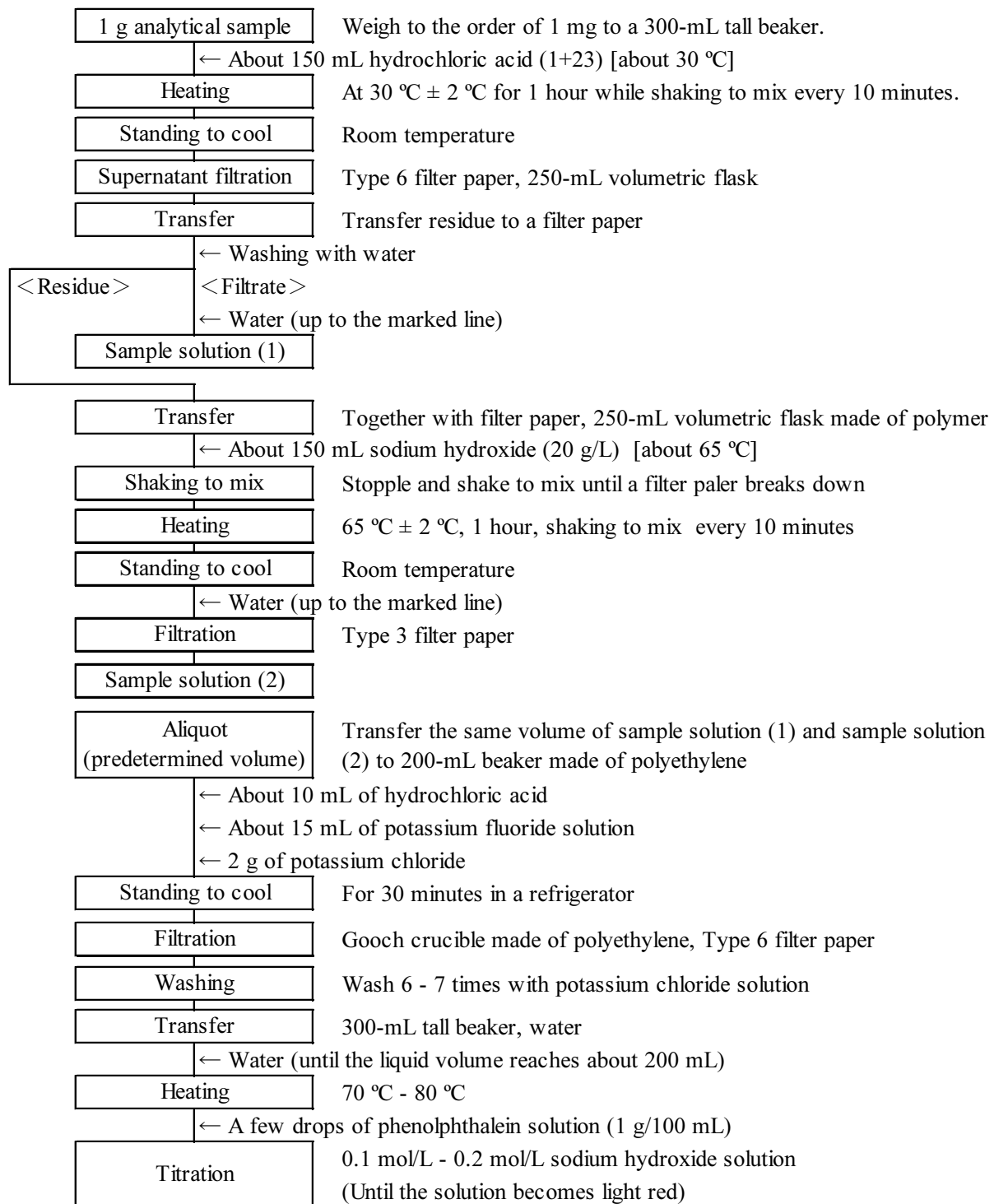


Fig. 1 Flow sheet for soluble silicic acid in the fertilizers containing silica gel fertilizer

3. 結果及び考察

1) 酸可溶性けい酸及びアルカリ可溶性けい酸の含量と本法によるその測定値の比較

混合りん酸肥料 5 点, 化成肥料 7 点, 配合肥料 1 点の計 13 点を用いて, 試料溶液(1)及び試料溶液(2)を調製してそれぞれ測定して得られた酸可溶性けい酸及びアルカリ可溶性けい酸の含量(以下,「可溶性けい酸の含量」という.)と, それらを混合し測定した可溶性けい酸の測定値を Table 1 に示した. その結果, 可溶性けい酸の含量は

い酸の含量に対する可溶性けい酸の測定値は、その測定値が質量分率 12.93 %～43.02 %の範囲で、99.2 %～101.2 %であった。また、可溶性けい酸の含量及び測定値の関係を Fig. 2 に示し、更に、回帰直線を描いた。回帰直線の回帰式は $y=1.006x-0.25$ であり、その相関係数は $r=1.000$ であった。

可溶性けい酸の含量及び可溶性けい酸はほぼ一致していることから、試験操作の簡素化及び迅速化するため、以下の検討では試料溶液(1)及び試料溶液(2)を混合して可溶性けい酸を測定することとした。

Table 1 Measured value of soluble silicic acid using acid and base extract, respectively, and the mixture

| Materials | Measured value using respective extract | | | Measured value using the mixture (%) ⁴⁾ |
|------------------------------|---|---|--|--|
| | Acid-soluble silicic acid ¹⁾ (%) ⁴⁾ | Base-soluble silicic acid ²⁾ (%) ⁴⁾ | Calculated total content ³⁾ (%) ⁴⁾ | |
| Phosphate fertilizer mixture | 20.42 | 4.48 | 24.90 | 25.04 |
| Phosphate fertilizer mixture | 28.15 | 5.53 | 33.68 | 33.64 |
| Phosphate fertilizer mixture | 25.98 | 4.87 | 30.85 | 30.75 |
| Phosphate fertilizer mixture | 27.56 | 6.07 | 33.63 | 33.96 |
| Phosphate fertilizer mixture | 29.38 | 4.91 | 34.29 | 34.56 |
| Compound fertilizer | 4.84 | 29.31 | 34.15 | 34.22 |
| Compound fertilizer | 0.37 | 23.20 | 23.56 | 23.67 |
| Compound fertilizer | 4.58 | 25.45 | 30.03 | 29.95 |
| Compound fertilizer | 14.84 | 18.68 | 33.52 | 33.62 |
| Compound fertilizer | 1.33 | 11.60 | 12.93 | 12.95 |
| Compound fertilizer | 11.21 | 4.59 | 15.80 | 15.99 |
| Compound fertilizer | 0.65 | 42.37 | 43.02 | 42.66 |
| Mixed fertilizer | 21.79 | 11.97 | 33.76 | 33.89 |

1) Measurement using sample solution(1) in Fig. 1

2) Measurement using sample solution(2) in Fig. 1

3) Calculated from the acid- and the base-soluble silicic acid content

4) Mass fraction

2) 併行試験

試料 13 点について、本法に従って 3 点併行で試験した結果を Table 2 に示した。平均定量値は質量分率 12.85 %～42.49 %の範囲で、標準偏差は質量分率 0.04 %～0.29 %で、相対標準偏差は 0.2 %～1.2 %であり、満足する成績であった。

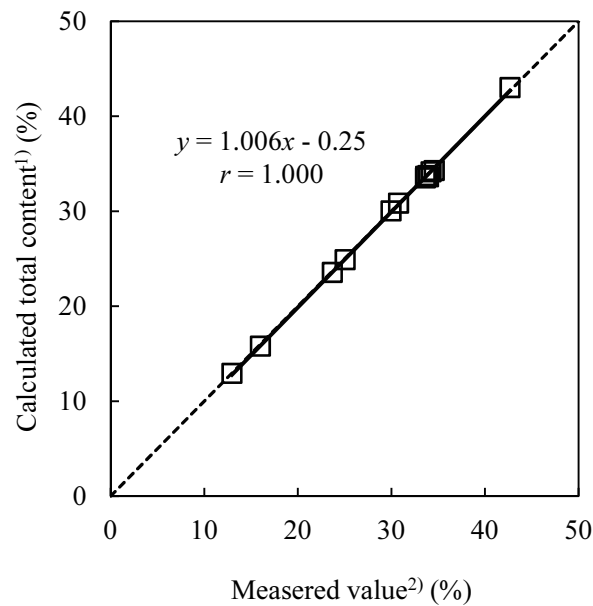


Fig. 2 Relation between calculated total content and measured value of soluble silicic acid

Solid line: derived from the regression line

Dashed line: derived from $y=x$

1) Calculated total content of from the acid- and the base-soluble silicic acid content

2) Measured value of using the mixture

Table 2 The results of repeatability measurement

| Materials | Mean ¹⁾ (%) ⁴⁾ | s^2 ²⁾ (%) ⁴⁾ | RSD ³⁾ (%) |
|------------------------------|---|--|--------------------------|
| Phosphate fertilizer mixture | 25.25 | 0.29 | 1.1 |
| Phosphate fertilizer mixture | 33.44 | 0.15 | 0.4 |
| Phosphate fertilizer mixture | 30.80 | 0.08 | 0.3 |
| Phosphate fertilizer mixture | 34.34 | 0.29 | 0.9 |
| Phosphate fertilizer mixture | 34.32 | 0.21 | 0.6 |
| Compound fertilizer | 34.34 | 0.22 | 0.6 |
| Compound fertilizer | 23.57 | 0.09 | 0.4 |
| Compound fertilizer | 29.97 | 0.11 | 0.4 |
| Compound fertilizer | 33.74 | 0.11 | 0.3 |
| Compound fertilizer | 12.85 | 0.16 | 1.2 |
| Compound fertilizer | 15.94 | 0.04 | 0.2 |
| Compound fertilizer | 42.49 | 0.12 | 0.3 |
| Mixed fertilizer | 33.86 | 0.05 | 0.2 |

1) Mean value of soluble silicic acid (three trials)

2) Standard deviation

3) Relative standard deviation

4) Mass fraction

3) 定量下限の確認

定量下限を確認するため、可溶性けい酸 2%相当量の試料を調製し、本法に従って 10 点併行試験を実施し

た結果を Table 3 に示した. 定量下限は「標準偏差×10」, 「検出下限は標準偏差×2×t(n-1, 0.05)」として求められる⁷⁾. このことから, 本法における定量下限は質量分率 1 %程度, 検出下限は質量分率 0.5 %程度と推定された. なお, 定量下限レベルの試料の滴定操作を行うにあたり, 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の滴定量は 1 mL 程度であった.

Table 3 Estimated LOQ and LOD for solubility silicic acid

| Material | Mean ¹⁾ (%) ⁵⁾ | s ²⁾ (%) ⁵⁾ | Estimated LOQ ³⁾ (%) ⁵⁾ | Estimated LOD ⁴⁾ (%) ⁵⁾ |
|------------------------------|---|--------------------------------------|--|--|
| Phosphate fertilizer mixture | 1.89 | 0.11 | 1.1 | 0.5 |

1) Mean value of soluble silicic acid (ten trials)

2) Standard deviation

3) $s \times 10$

4) $s \times 2 \times t(n-1, 0.05)$

5) Mass fraction

4. まとめ

シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸の測定について, 水酸化ナトリウム溶液 (20 g/L) で抽出する操作を改良し, 単一試験室における妥当性の確認を含む検討を実施したところ, 次の結果を得た.

1) 試料溶液 (1) 及び試料溶液 (2) をそれぞれ測定して得られた酸可溶性けい酸及びアルカリ可溶性けい酸の含量と試料溶液 (1) 及び試料溶液 (2) の混合液を測定して得られた可溶性けい酸の測定値を比較したところ, 前者に対する後者の割合は, その測定値が質量分率 12.93 %~43.02 %の範囲で, 99.2 %~101.2 %であった. 回帰直線の回帰式は $y=1.006x-0.25$ であり, その相関係数は $r=1.000$ であり, 可溶性けい酸の含量及び可溶性けい酸の測定値はほぼ一致した. 一回の測定で可溶性けい酸を測定できることを確認したことより, 試験操作の簡素化及び迅速化ができた.

2) 混合りん酸肥料 5 点, 化成肥料 7 点及び配合肥料 1 点について 3 点併行試験を実施したところ, 平均測定値が質量分率 12.85 %~42.49 %の範囲で, 標準偏差は質量分率 0.04 %~0.29 %で, 相対標準偏差は 0.2 %~1.2 %であった.

3) 本法における可溶性けい酸の定量下限は質量分率 1 %程度, 検出下限は質量分率 0.5 %程度と推定された.

本法は, 単一試験室による試験法の妥当性が確認されたことから, 2012 年度肥料等技術検討会の審議を受け, 肥料等試験法⁵⁾に参考法として収載された.

文 献

- 1) 農林水産省告示: 肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林省告示第 1985 号 (2012)
- 2) 農林水産省告示: 肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和 59 年 3 月 16 日, 農林水産省告示第 596 号, 最終改正平成 11 年 5 月 13 日, 農林水産省告示第 704 号 (1999)

- 3) 橋本健志, 清水 昭, 岡田かおり:シリカゲル肥料中の可溶性けい酸測定 —ふっ化カリウム法の適用—, 肥料研究報告, **3**, 19～24, (2010)
- 4) 清水 昭, 阿部 進, 伊藤 潤:シリカゲル肥料及びシリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定 —共同試験成績—, 肥料研究報告, **5**, 31～40, (2012)
- 5) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 6) 清水昭, 伊藤潤, 阿部進:シリカゲル肥料を含む肥料中の可溶性けい酸測定 —アルカリ抽出法の改良—, 肥料研究報告, **4**, 1～8, (2011)
- 7) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)

Method Validation of Potassium Fluoride Method for Determination of Acid-Soluble and Base-Soluble Silicic Acid in Fertilizer containing Silica Gel

Akira SHIMIZU¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

A study was conducted to evaluate the applicability of the method of potassium fluoride for determination of acid-soluble and base-soluble silicic acid in fertilizer containing silica gel. Silicic acid in fertilizers was extracted with hydrochloric acid (1+23) and sodium hydroxide solution (20 g/L) successively, and then each extract was mixed. The silicic acid in the mixture was determined by potassium fluoride method. The accuracy and the precision were assured from 3 replicate determinations of 13 fertilizer samples containing silica gel. As a result, mean value ranged from 12.85 % to 42.49 %, standard deviations (s) ranged from 0.04 % to 0.29 % and relative standard deviations (RSD) ranged from 0.2 % to 1.2 %. On the basis of 10 replicate measurements of each testing method of a solid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 1 %. These results show that the method of extraction by hydrochloric acid and sodium hydroxide is useful for the determination of available silicic acid in fertilizer containing silica gel.

Key words available silicic acid, potassium fluoride method, silica gel, fertilizer

(Research Report of Fertilizer, **5**, 1~8, 2013)

2 燃焼法による汚泥肥料及び堆肥中の有機炭素の測定

矢野愛子¹, 秋元里乃¹, 白井裕治¹

キーワード 有機炭素, 汚泥肥料, 堆肥, 燃焼法

1. はじめに

堆肥及び汚泥肥料等は、家畜排せつ物や下水汚泥等有機物の有効利用を通じて、近年注目される資源循環型農業の維持促進に重要な農業資材である。これら肥料には、含有成分等に関して表示すべき事項が定められており、窒素全量、りん酸全量、加里全量および炭素窒素比は必須表示事項となっている^{1~4}。このうち炭素窒素比は、有機物に由来する炭素量である有機炭素量を窒素全量で除した値として表し、肥料の腐熟度を示す指標として施肥時の重要な情報となっている。有機炭素量を求めるには二クロム酸酸化法を用いることが農林水産省告示により定められている^{3, 5}。

二クロム酸酸化法は特殊な装置を必要とせずに試料中の有機炭素量を定量できる一方、試料の分解時に高濃度の二クロム酸カリウム及び硫酸溶液を用いる。二クロム酸カリウムはいわゆる重クロム酸として毒物及び劇物取締法により劇物に指定され⁶、発ガン性も指摘されるなど環境毒性の強い有害物質である。二クロム酸カリウムは酸化力が強く、かつては実験室内での器具洗浄などにも使用されたが、現在では廃液処理の問題から使用が忌避される傾向にある。

一方、有機物中の炭素量を求める分析法としては全窒素全炭素測定装置を用いた燃焼法が知られている。燃焼法は、純粋な酸素ガス中にて試料を高温で燃焼させ、遊離する二酸化炭素を熱伝導度検出器(TCD)で測定し試料中の炭素全量を求める方法である。燃焼法は二クロム酸酸化法と比較して有害な二クロム酸カリウム及び高い濃度の硫酸溶液を必要とせず、測定時間が短い利点がある。しかし、燃焼法定量値と二クロム酸酸化法定量値には良好な相関が見られないことが報告されている⁷。燃焼法定量値は試料中の炭酸塩等に由来する無機炭素分も含めた炭素全量であるため、二クロム酸酸化法により求めた有機炭素量と比較して高値傾向になることが指摘されている。

今回、土壤中及び下水汚泥中の有機炭素の分析法^{8, 9}を参考とし、試料に前処理として塩酸を反応させ無機炭素分を二酸化炭素として除去した後、燃焼法によって炭素量を測定し有機炭素量として評価する分析法(以下、「塩酸処理燃焼法」という。)を検討した。二クロム酸酸化法により求めた測定値と比較し、新たな有機炭素定量法としての妥当性の確認等を行ったのでその概要を報告する。

2. 材料及び方法

1) 分析用試料の調製

汚泥発酵肥料 11 点, 尿汚泥肥料 3 点, 焼成汚泥肥料 2 点, 工業汚泥肥料 5 点, 下水汚泥肥料 1 点, 混合汚泥肥料 1 点および堆肥 2 点(計 25 点)を収集した。40℃で 60~70 時間又は 65℃で 5~24 時間乾燥し、目開き 500 μm のふるいを通過するまで粉碎したものを分析用試料として使用した。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

2) 試薬等の調製

- (1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水又は同等の品質のもの.
- (2) 炭酸カルシウム: JIS K 8617 に規定する特級試薬
- (3) 炭酸ナトリウム: JIS K 8625 に規定する特級試薬
- (4) 炭酸カリウム: JIS K 8615 に規定する特級試薬
- (5) 炭酸水素ナトリウム: JIS K 8622 に規定する特級試薬
- (6) 海砂: 米山薬品工業 20 mesh~30 mesh (600 μm ~850 μm)
- (7) DL-アスパラギン酸標準品: キンダ化学 特級(純度 99.0 %以上)
- (8) 塩酸: 有害金属用または同等品

3) 器具及び装置

- (1) 全窒素全炭素測定装置: 住化分析センター SUMIGRAPH NC-220F
- (2) ホットプレート: AS ONE THI-1000
- (3) 定温乾燥機: TABAI Perfect oven-original PS-112
- (4) X 線回折装置: リガク Ultima IV

4) 燃焼法による全炭素量の測定

- (1) 検量線の作成

DL-アスパラギン酸標準品を用い, Table 1 の条件で炭素量を測定し検量線を作成した.

Table 1 Analytical conditions for total nitrogen and total carbon analyzer

| | |
|------------------------|---|
| Combustion gas | Highly pure oxygen, purity no less than 99.9999 %, flow rate 200 mL/min |
| Carrier gas | Highly pure helium, purity no less than 99.9999 %, flow rate 80 mL/min |
| Separation column | A silica gel stainless column (1 m) |
| Detector | Thermal conductivity detector (TCD) |
| Measurement cycle | Purge time; 60 seconds, circulation combustion time; 300 seconds, measurement time; 270 seconds |
| Temperature conditions | Reaction furnace temperature; 870 °C, Reduction furnace temperature; 600 °C Column oven temperature; 70 °C, Detector temperature; 100 °C |
| Detector current value | 160 mA |

- (2) 測定

分析試料 0.05 g を 0.1 mg の桁まで石英ボートにはかりとり, Table 1 の条件に設定した装置を用いて分析試料中の全炭素量を測定した (Fig. 1).

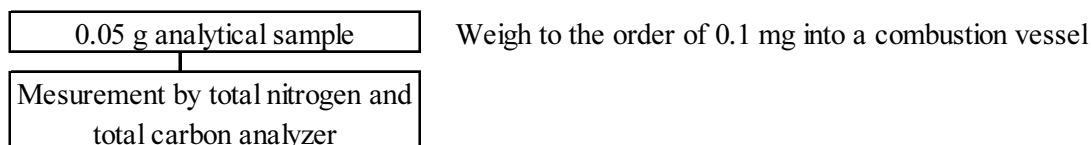


Fig.1 Flow sheet for total carbon (TC) in sludge fertilizer and compost by combustion method

5) 塩酸処理燃焼法による有機炭素量の測定

(1) 検量線の作成

4) (1)と同様の操作を実施した。

(2) 測定

分析試料 0.05 g を 0.1 mg の桁まで石英ボートにはかりとり、海砂 0.2 g 程度で試料を覆い、数滴の水を滴下して試料を湿らせた。塩酸 (3 mol/L) 0.7 mL 程度を少しずつ滴下した後、更に水 0.2 mL 程度を滴下し石英ボートを揺すって分析試料を塩酸溶液に完全に接触させた。なお、塩酸添加時に発泡する場合は少時静置した。100 °C のホットプレートで 90 分加熱乾固し、105 °C の定温乾燥機で 30 分加熱乾燥し塩酸を完全に除去した後、Table 1 の条件に設定した装置を用いて分析試料中の有機炭素量を測定した (Fig. 2)。測定時のクロマトグラムの一例を Fig. 3 に示した。

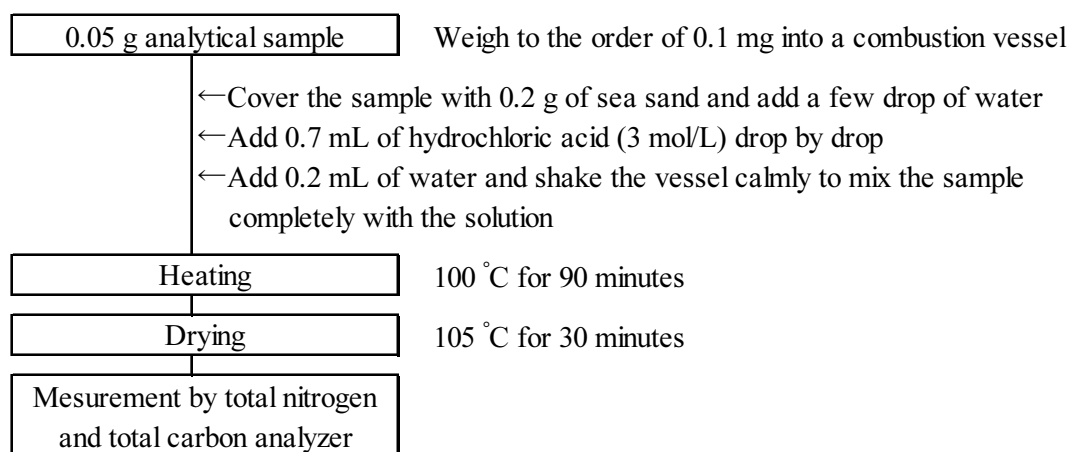
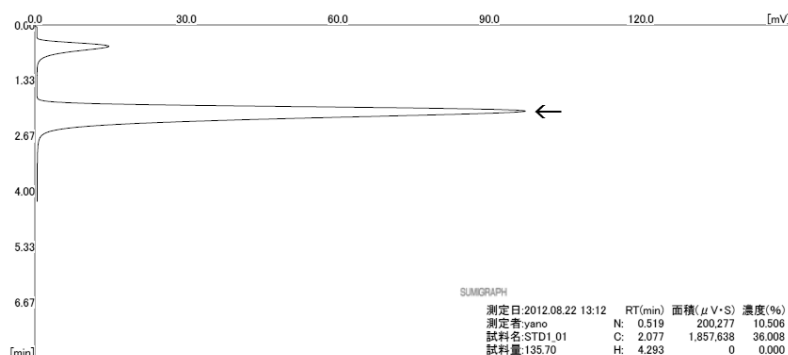
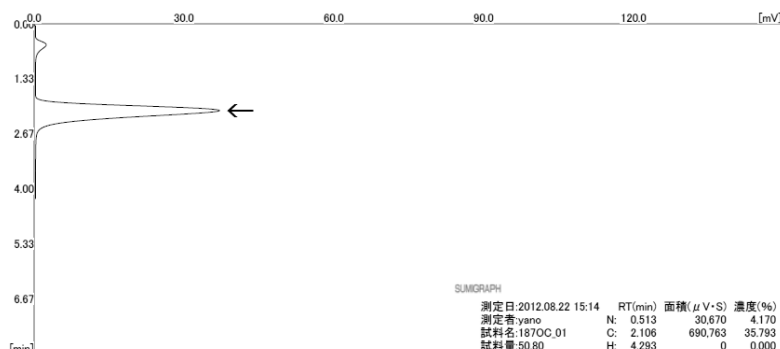


Fig.2 Flow sheet for organic carbon (OC) in sludge fertilizer and compost by hydrochloric acid (HCl)-treated combustion method



1) Total carbon in standard for calibration curves (DL-Aspartic acid)



2) Organic carbon in analytical sample (sludge fertilizer)

Fig.3 Chromatograms of carbon (Peaks are shown by arrows)

6) ニクロム酸酸化法による有機炭素量の測定

肥料等試験法¹⁰⁾に記載されているニクロム酸酸化法(4.11.1.a)により分析試料中の有機炭素量を測定した(Fig. 4).

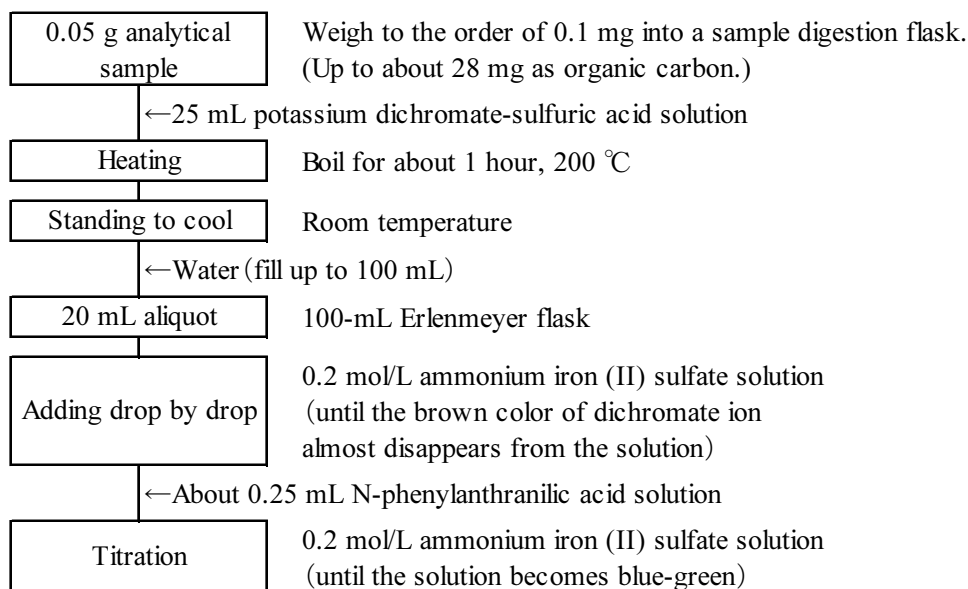


Fig. 4 Flow sheet for OC in sludge fertilizer and compost by dichromate oxidation

3. 結果及び考察

1) 従来の燃焼法とニクロム酸酸化法との比較

2.1)で調製した分析用試料 25 点の従来の燃焼法による測定値とニクロム酸酸化法による測定値の相関を Fig. 5 に示し($y = 0.980x + 2.58$, $r = 0.990$), 燃焼法測定値の予測値の95%信頼区間を回帰直線の周囲に描いた。燃焼法による測定値は, ニクロム酸酸化法による測定値に対して99.4%~148.1%と全体的に高い値を示し, その割合は一定ではなかった。また, ニクロム酸酸化法による有機炭素量の測定値から, 回帰式を用いて燃焼法による全炭素量の予測値及び前者に対する割合を求め Table 2 に示した。その結果, 有機炭素量の測定値が15%~45%で, 有機炭素量に対する炭素全量の予測値の割合は103.7%~115.2%であり, 予測値の95%信頼区間の上限値での割合は112.0%~140.4%であった。

燃焼法による測定値を用いて炭素窒素比を算出した場合、二クロム酸酸化法による有機炭素量を用いて表示値と一致する炭素窒素比が算出された試料においても、特殊肥料の品質表示基準³⁾に規定されている誤差の許容範囲(表示値のプラスマイナス 30 パーセント)を超えることがある。したがって、燃焼法を用いて測定する前に分析試料を塩酸で処理することを検討し、二クロム酸酸化法と比較することとした。

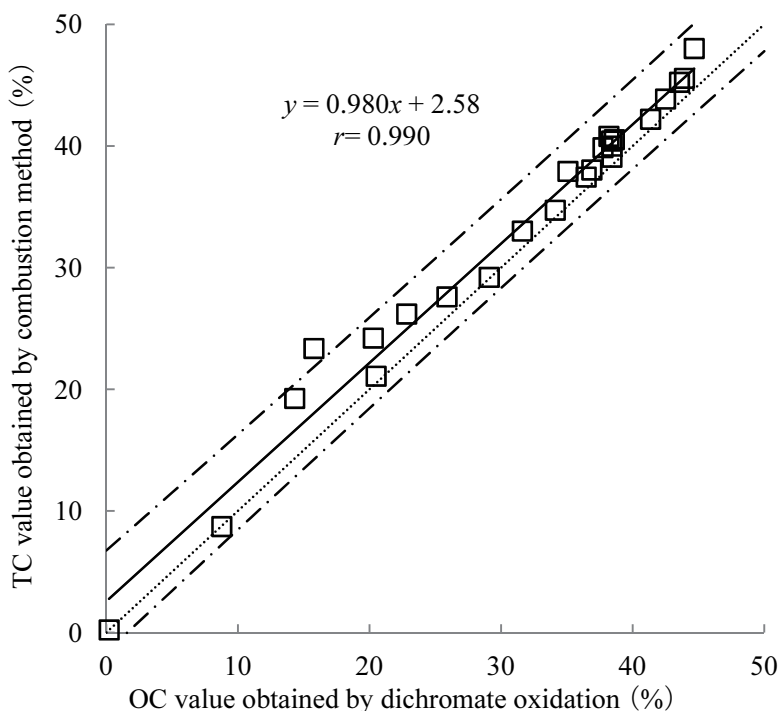


Fig. 5 Comparison of combustion method with dichromate oxidation

Solid line: Regression line

Dashed lines: Upper and Lower limit of 95 % confidence interval

Dotted line: $y = x$

Table 2 Prediction of TC value of combustion method from OC value obtained by dichromate oxidation

| Value obtained by dichromate oxidation (%) ¹⁾ | Calculated value from regression line | | | Percentage of value obtained by dichromate oxidation ²⁾ | | |
|--|---------------------------------------|---|---|--|-------------------------------|-------------------------------|
| | Calculated value (%) ¹⁾ | Lower limit ³⁾ (%) ¹⁾ | Upper limit ⁴⁾ (%) ¹⁾ | Calculated value (%) | Lower limit ³⁾ (%) | Upper limit ⁴⁾ (%) |
| 15.0 | 17.3 | 13.5 | 21.1 | 115.2 | 90.0 | 140.4 |
| 30.0 | 32.0 | 28.3 | 35.6 | 106.6 | 94.4 | 118.8 |
| 45.0 | 46.7 | 42.9 | 50.4 | 103.7 | 95.4 | 112.0 |

1) Mass fraction

2) (Calculated value from regression line / Value obtained by dichromate oxidation) × 100

3) Lower limit of 95 % confidence interval

4) Upper limit of 95 % confidence interval

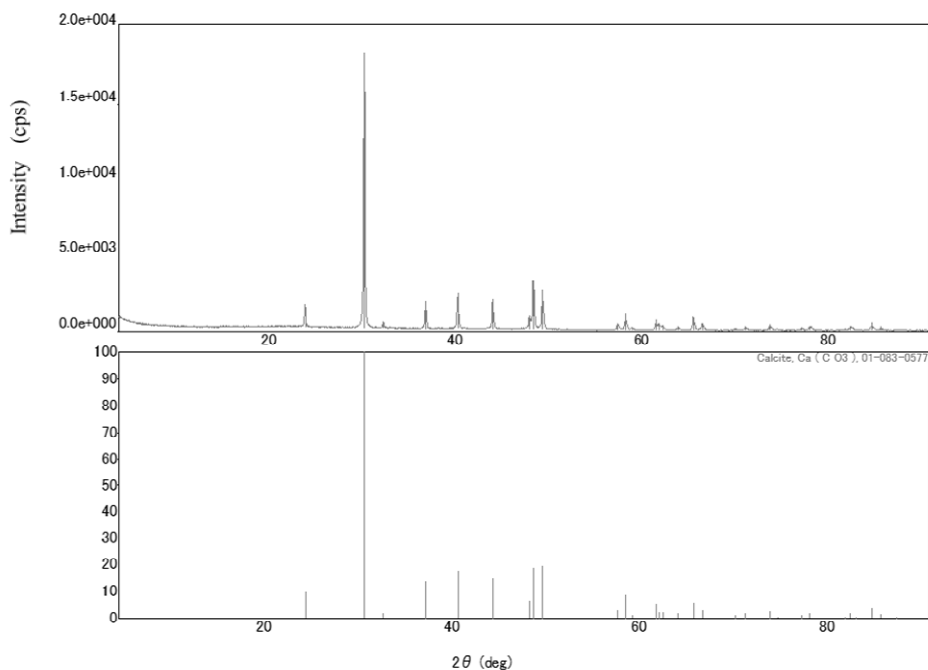


Fig. 6 X-ray diffraction pattern and the analysis result of the pattern fitting (CaCO_3)

Instrument: Rigaku Ultima IV

Radiation: $\text{CuK}\alpha$

Operating voltage and current: 40 kV/40 mA

Monochromator: Curved graphite

Divergence slit: 1°

Anti-scatter slit: 1°

Scan mode: θ - 2θ step scan

Scan range: 3 - 90° (2θ)

Fixed counting time: 2.4 sec/step

Step interval: 0.02° (2θ)

2) 炭酸塩への塩酸処理効果

分析試料を用いた塩酸処理燃焼法の検討に先立ち、二クロム酸酸化法による有機炭素量と比較して燃焼法による全炭素量測定値が大きく、無機態の炭素(炭酸塩)を多く含むと思われる分析用試料について、X線回折装置を用いてその結晶構造を調査したところ、炭酸カルシウム(CaCO_3)が検出された(Fig. 6)。

炭酸カルシウム(CaCO_3)の他に、汚泥肥料に含まれているナトリウム及びカリウムの塩類試薬として炭酸ナトリウム(Na_2CO_3)、炭酸水素ナトリウム(NaHCO_3)及び炭酸カリウム(K_2CO_3)を石英ボートにはかり、燃焼法及び塩酸処理燃焼法により炭素量を測定した。その結果はTable 3のとおりであり、塩酸処理によって炭酸塩に由来する無機炭素はほとんど除去できた。

Table 3 Carbon value obtained both by combustion method and by HCl-treated combustion method

| Analytical sample | Molecular weight | Combustion method (%) ¹⁾ | HCl-treated combustion method (%) ¹⁾ |
|--------------------------|------------------|-------------------------------------|---|
| CaCO_3 | 100.1 | 13.7 | 0.1 |
| Na_2CO_3 | 106.0 | 10.3 | 0.0 |
| K_2CO_3 | 138.2 | 6.7 | 0.0 |
| NaHCO_3 | 84.0 | 13.8 | 0.0 |

1) Mass fraction

3) 汚泥肥料中の炭酸塩への塩酸処理効果

塩酸処理により汚泥肥料中炭酸塩由来の無機炭素を除去可能か確認するため、予め二クロム酸酸化法により有機炭素量を測定した汚泥発酵肥料(有機炭素量 35.8 % (質量分率))及び各種炭酸塩一種類をそれぞれ石英ボートに混合採取し、塩酸処理燃焼法により炭素量を測定した。なお、汚泥発酵肥料は二クロム酸酸化法による有機炭素量の測定値と燃焼法による全炭素量の測定値がほぼ一致し、炭酸塩類をほとんど含有しないと確認したものを使用した。

汚泥発酵肥料の混合割合(A)及び塩酸処理燃焼法による測定値(C)を Table 4 に示した。分析試料中の汚泥発酵肥料由来の有機炭素量(B=35.8×(A/100))を求め、有機炭素量の検出割合(D=C/B×100)を算出したところ、有機炭素量の検出割合は概ね 100 %であった。汚泥発酵肥料に混合した炭酸塩又は重炭酸塩由来の無機炭素は、塩酸処理操作によって除去され、有機炭素量の測定へは影響しないことが示された。

Table 4 Effect of treatment with hydrochloric acid for the removal of inorganic carbon in composted sludge fertilizer

| | Preparation of analytical sample | | Determination ¹⁾ | |
|---|--|-----------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | Ratio of composted sludge fertilizer ²⁾ | OC content | Mesured value | Detection percentage of OC |
| | A (%) ³⁾ | B ⁴⁾ (%) ³⁾ | C (%) ³⁾ | D ³⁾ (%) |
| Composted sludge fertilizer + CaCO ₃ | 71 | 25.3 | 25.1 | 99.1 |
| Composted sludge fertilizer + Na ₂ CO ₃ | 69 | 24.6 | 24.3 | 98.5 |
| Composted sludge fertilizer + K ₂ CO ₃ | 72 | 25.7 | 26.2 | 101.8 |
| Composted sludge fertilizer + NaHCO ₃ | 60 | 21.6 | 21.9 | 101.4 |

1) HCl-treated combustion method

2) OC content obtained by dichromate oxidation : 35.8 % (Mass fraction)

3) Mass fraction

4) B=35.8 × (A/100)

5) D=(C/B) × 100

4) 塩酸処理燃焼法と二クロム酸酸化法との比較

2.1) で調製した分析用試料 25 点について塩酸処理燃焼法及び二クロム酸酸化法により得られた測定値の相関を Fig. 7 に示し ($y = 1.009x + 0.004$, $r = 0.999$), 塩酸処理燃焼法測定値の予測値の 95 %信頼区間を回帰直線の周囲に描いた。塩酸処理燃焼法による測定値は、二クロム酸酸化法による測定値に対して 97.0 % ~ 103.4 % とほぼ一致した。また、二クロム酸酸化法による有機炭素量の測定値から、回帰式を用いて塩酸処理燃焼法による有機炭素量の予測値及び前者に対する割合を求め Table 5 に示した。その結果、有機炭素量の測定値が 15 % ~ 45 % で、二クロム酸酸化法による測定値に対する塩酸処理燃焼法予測値の割合は 100.9 % であり、予測値の 95 %信頼区間の下限値及び上限値での割合はそれぞれ 94.3 % ~ 98.7 % 及び 103.0 % ~ 107.5 % であった。

二クロム酸酸化法による有機炭素量を用いて表示値と一致する炭素窒素比が算出された試料において、塩酸処理燃焼法による有機炭素量を用いて炭素窒素比を算出しても、特殊肥料の品質表示基準³⁾に規定されている誤差の許容範囲(表示値のプラスマイナス 30 パーセント)を超えることはないと考えられる。これらの結果により、有機炭素量定量のために二クロム酸酸化法に代えて塩酸処理燃焼法を適用することは充分可能と考えら

れた.

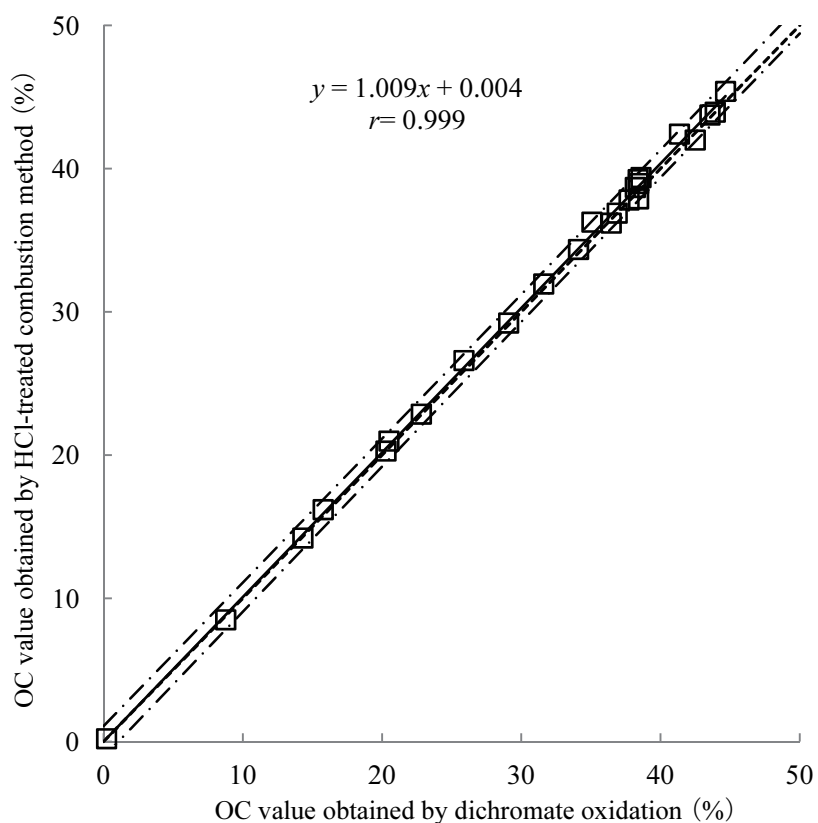


Fig. 7 Comparison of HCl-treated combustion method with dichromate oxidation

Solid line: Regression line

Dashed lines: Upper and Lower limit of 95 % confidence interval

Dotted line: $y = x$

Table 5 Prediction of OC value of HCl-treated combustion method from OC value obtained by dichromate oxidation

| Value obtained by dichromate oxidation (%) ¹⁾ | Calculated value from regression line | | | Percentage of value obtained by dichromate oxidation ²⁾ | | |
|--|---------------------------------------|---|---|--|-------------------------------|-------------------------------|
| | Calculated value (%) ¹⁾ | Lower limit ³⁾ (%) ¹⁾ | Upper limit ⁴⁾ (%) ¹⁾ | Calculated value (%) | Lower limit ³⁾ (%) | Upper limit ⁴⁾ (%) |
| 15.0 | 15.1 | 14.1 | 16.1 | 100.9 | 94.3 | 107.5 |
| 30.0 | 30.3 | 29.3 | 31.2 | 100.9 | 97.7 | 104.1 |
| 45.0 | 45.4 | 44.4 | 46.4 | 100.9 | 98.7 | 103.0 |

1) Mass fraction

2) (Calculated value from regression line / Value obtained by dichromate oxidation) × 100

3) Lower limit of 95 % confidence interval

4) Upper limit of 95 % confidence interval

5) 塩酸処理燃焼法による有機炭素量測定のパラレル試験

汚泥発酵肥料 2 点, 焼成汚泥肥料, し尿汚泥肥料, 工業汚泥肥料, 下水汚泥肥料, 及び堆肥各 1 点について, 塩酸処理燃焼法により有機炭素量を 3 点併行で試験した結果を Table 6 に示した. 標準偏差は 0.1 %~0.5 %(質量分率)であり, 相対標準偏差は 0.2 %~2.0 %であった. 有機炭素量の平均値が 8.5 %~46.0 %(質量分率)の範囲で, 良好な併行精度が得られた.

Table 6 Replicate test on OC in sludge fertilizer and compost by HCl-treated combustion method

| Type of fertilizer | Mean value ¹⁾ (%) ²⁾ | Standard deviation (%) ²⁾ | Relative standard deviation (%) |
|-------------------------------|---|---|------------------------------------|
| Calcined sludge fertilizer | 8.5 | 0.1 | 0.8 |
| Compost | 21.8 | 0.2 | 1.0 |
| Human waste sludge fertilizer | 35.8 | 0.1 | 0.2 |
| Composted sludge fertilizerA | 23.1 | 0.5 | 2.0 |
| Composted sludge fertilizerB | 39.0 | 0.3 | 0.7 |
| Industrial sludge fertilizer | 39.4 | 0.1 | 0.3 |
| Sewage sludge fertilizer | 46.0 | 0.5 | 1.2 |

1) Mean of triplicates

2) Mass fraction

6) 定量下限の確認

焼成汚泥肥料について, 塩酸処理燃焼法により有機炭素量を 8 点併行で試験した結果を Table 7 に示した. 平均定量値は質量分率 0.156 %であり, その標準偏差は質量分率 0.005 %であった. 定量下限は(標準偏差)×10, また, 検出下限は(標準偏差)×2×t(n-1, 0.05)として示される¹¹⁾ので, 本法の定量下限及び検出下限は質量分率 0.05 %程度及び質量分率 0.02 %程度と推定された.

Table 7 Determination limit of HCl-treated combustion method

| Type of fertilizer | Mean value ¹⁾ (%) ⁴⁾ | Standard deviation (%) ⁴⁾ | Prediction of determination limit ²⁾ (%) ⁴⁾ | Prediction of detection limit ³⁾ (%) ⁴⁾ |
|----------------------------|---|---|--|--|
| Calcined sludge fertilizer | 0.156 | 0.005 | 0.05 | 0.02 |

1) Mean of 8 replicates

2) (Standard deviation)×10

3) (Standard deviation)×2×t(n-1,0.05)

4) Mass fraction

4. まとめ

塩酸処理燃焼法およびニクロム酸酸化法により 25 種類の汚泥肥料等中の有機炭素量を測定した. 測定値を比較したところ, 両測定値間に高い相関関係($r = 0.999, y = 1.009x + 0.004$)が認められた. 7 種類の汚泥肥料

等について塩酸処理燃焼法試験の3回繰返し精度を求めた結果、有機炭素量の平均値が8.5%~46.0%(質量分率)の範囲で標準偏差は0.1%~0.5%(質量分率)、相対標準偏差は0.2%~2.0%であった。また、定量下限は0.05%(質量分率)程度と推定された。これらの結果から、汚泥肥料及び堆肥の炭素窒素比を算出するために使用する有機炭素量の定量には、塩酸処理燃焼法は満足する性能を有することが確認された。

環境問題が大きく取り上げられる昨今では、肥料分析の分野においても環境負荷物質の使用を低減させることが求められる。塩酸処理燃焼法は二クロム酸酸化法と比較して環境負荷物質の使用量が格段に少なく分析法も簡易であることに加え、今回の検討により両分析法により得られる測定値は高い精度で一致することが明らかとなった。塩酸処理燃焼法は環境負荷低減化、分析法簡素化の両面から有機炭素量の定量法として有用と考えられる。

文 献

- 1) 肥料取締法:昭和25年5月1日,法律第127号,最終改正平成23年8月30日,法律第105号(2011)
- 2) 農林水産省令:肥料取締法施行規則,昭和25年6月20日,農林水産省令第64号,最終改正平成24年8月8日,農林水産省令第44号(2012)
- 3) 農林水産省告示:特殊肥料の品質表示基準,平成12年8月31日,農林水産省告示第1163号,最終改正平成17年2月28日,農林水産省告示第364号(2005)
- 4) 農林水産省告示:肥料取締法第十七条第一項第三号の規定に基づき,肥料取締法第四条第一項第三号に掲げる普通肥料の保証票にその含有量を記載する主要な成分を定める件,平成12年1月27日,農林水産省告示第96号,最終改正平成13年3月15日,農林水産省告示第337号(2001)
- 5) 農林水産省告示:肥料取締法施行規則第十一条の二第一項及び第二項の規定に基づき原料及び材料の保証票への記載に関する事項を定める件,昭和59年3月16日,農林水産省告示第700号,最終改正平成16年1月15日,農林水産省告示第74号(2004)
- 6) 毒物及び劇物取締法:昭和25年12月28日,法律第303号,最終改正平成23年12月14日,法律第122号(2011)
- 7) 佐藤一弘,柳川道夫,田中耕一,田島美代子:乾式燃焼法およびチューリン法による堆肥等の有機質資材中の炭素含有率分析の差異,日本土壌肥料学雑誌,72(6),780~782(2001)
- 8) 地盤工学会基準:土の有機炭素含有量試験方法,JGS 0231-2000
- 9) 建設省都市局下水道部・厚生省生活衛生局水道環境部監修:下水試験方法1997年版,p331,下水道協会,東京(1997)
- 10) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 11) 環境省水・大気環境局水環境課:要調査項目等調査マニュアル(水質,底質,水生生物),p.8~11,(2008)

Determination of Organic Carbon in Sludge Fertilizer and Compost by Hydrochloric Acid-Treated Combustion Method

Aiko YANO¹, Satono AKIMOTO¹ and Yuji SHIRAI¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

We report hydrochloric acid (HCl)-treated combustion method for organic carbon (OC) in sludge fertilizer and compost using total nitrogen and total carbon analyzer. Analytical sample was treated with small amount of dilute hydrochloric acid in order to eliminate inorganic carbon as carbon dioxide before measurement by total nitrogen and total carbon analyzer. The content of OC was measured in 25 analytical samples both by our method and by dichromate oxidation (current testing method for OC). The data obtained from our method correlated highly with the data from dichromate oxidation ($r=0.999$, $y=1.009x+0.004$). Relative standard deviations of triplicates in 7 different fertilizers were within 2.0 % (average quantitative values were in the range of 8.5 to 46.0%). Determination limit predicted from 8 replicate measurements was 0.05%. These results indicate that HCl-treated combustion method has an adequate level of accuracy for determining the content of OC in sludge fertilizer and compost.

Dichromate oxidation requires high level of sulfuric acid and potassium dichromate which is harmful to the environment. HCl-treated combustion method needs no such reagents other than small amount of dilute hydrochloric acid. HCl-treated combustion method can be useful as an alternative testing method for OC in sludge fertilizer and compost.

Key words: organic carbon, sludge fertilizer, compost, combustion method

(Research Report of Fertilizer, **6**, 9~19, 2013)

3 硫黄及び硫黄化合物を含む肥料中の硫黄分全量測定

—透過光測定法の適用—

杉村 靖¹

キーワード 硫黄, 硫酸, 比濁法, 透過光測定法

1. はじめに

平成 11 年 7 月に肥料取締法が改正¹⁾され, 硫黄又は硫酸を含む肥料は「硫黄及びその化合物」として公定規格²⁾が設定された. 硫黄及びその化合物は土壌の pH を下げるために用いられ, 平成 24 年 9 月末現在, 登録されている肥料の銘柄は 23 件である. 硫黄及びその化合物は, 硫黄, 硫酸(副生を含む), 硫酸第一鉄(副産物を含む), 亜炭等を原料として, 単体若しくは 2 種以上の原料を混合して製造されており, 腐敗防止材, 粒状化促進材及び組成均一化促進材などの材料を添加したものもある. 農林水産省告示³⁾により, 硫黄及びその化合物は硫黄分全量の表示が義務づけられており, また, 「硫黄分全量については, 硫黄燃焼法, 塩化バリウム法⁴⁾等により試料中の三酸化硫黄(SO₃)を定量し, これの試料中の重量に対する百分率(%)とする」と記載されている. このため, 流通している肥料の硫黄分全量の含有量は 1%~249%(単体硫黄 S の理論値)と幅広い. 定量法としては, 性状毎に純度試験法が JIS 規格^{4, 5)}等に収載されており, 生産事業場や分析機関においては製品の性状に適した方法を選択して試験を実施している.

JIS K 8088⁴⁾に規定されている硫黄(試薬)純度の試験法(塩化バリウム重量法)の一部改良した方法⁶⁾について, 平成 22 年度単一試験室における妥当性が確認され肥料等試験法⁷⁾に収載された. しかしながら, 塩化バリウム重量法は個々の操作に時間がかかることから, 筆者は JIS K 8001⁸⁾に規定されている試薬試験方法通則 JB.2.17.1 比濁法及び下水汚泥分析方法⁵⁾を一部改良し, 透過光測定法としての単一試験室における妥当性の確認を実施したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の採取及び調製

硫黄及びその化合物として Table 1 の 6 点の試験品を収集し, 試験品とした.

粉状の試験品は 0.2 kg~1.0 kg 程度を採取し, ビニール袋に入れて密封し, 目開き 500 µm のふるいを全通するまで粉砕して分析用試料とした. また, 液状の試験品はプラスチックボトルに入れて, そのまま分析用試料として試験に供した. なお, いずれの試験品及び分析用試料も常温で保管した.

2) 試薬

(1) 水酸化カリウム・エタノール溶液: JIS K 8574 に規定する水酸化カリウム 10 g を水 50 mL に溶かし, さらに JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 50 mL を加えた.

(2) 過酸化水素: JIS K 8230 に規定する試薬(30%).

(3) フェノールフタレイン溶液: JIS K 8799 に規定するフェノールフタレイン 1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール(95) 100 mL に溶かした.

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター (現)名古屋センター

- (4) 塩酸: JIS K 8180 に規定する試薬.
- (5) グリセリン-エタノール溶液(1+1): JIS K 8102 に規定するエタノール(95)250 mL に, JIS K 8295 に規定するグリセリン 250 mL を加えて溶かした.
- (6) 塩化ナトリウム溶液: JIS K 8150 に規定する塩化ナトリウム 240 g を JIS K 8180 に規定する塩酸 20 mL を含む水に溶かして 1 L とした.
- (7) 塩化バリウム: 硫黄酸化物測定用の塩化バリウム二水和物(和光純薬工業製, 500 μm~710 μm の粒度のもの).
- (8) 硫酸塩標準液(SO₃ 2 mg/mL): JIS K 8962 に規定する硫酸カリウムをあらかじめ 800 °C で恒量となるまで加熱しデシケーター中で放冷したもの 4.3531 g を水に溶かして 1 L とした.
- (9) 硫酸塩標準液(SO₃ 0.02 mg/mL~0.1 mg/mL): 硫酸塩標準液(SO₃ 2 mg/mL) 2 mL~10 mL を全量フラスコ 200 mL に段階的にとり, 標線まで水を加えた.
- (10) 水: 水精製装置(MERCK ELIX ESSENTIAL 5)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した.

Table1 The Characteristics of test samples

| Sample No. | Content | Form |
|------------|----------------------------------|--------|
| 1 | Sulfur | solid |
| 2 | Sulfur | solid |
| 3 | Sulfur mixture | solid |
| 4 | Sulfur mixture | liquid |
| 5 | Sulfur and sulfuric acid mixture | solid |
| 6 | Sulfuric acid mixture | liquid |

3) 器具及び装置

- (1) 電子はかり: METTLER TOLEDO AX504
- (2) 電熱器: SIBATA NP-6R
- (3) 水浴: AS ONE IWB-100, Thermo Fisher Scientific Isotemp 15-462-10Q
- (4) アスピレーター: SIBATA WJ-20
- (5) マグネチックスターラー: ASH AMG-H, SCINICS CPS-300
- (6) 分光光度計: 島津製作所 UV-1800 に自動試料導入装置シッパ-160 を付属したもの
- (7) 電気炉: ADVANTEC FUW242PA

4) 測定

分析試料 1 g~2 g を正確(0.1 mg の桁まで)にはかりとり, トールビーカー200 mL に入れ, 水酸化カリウム・エタノール溶液約 50 mL を加え, 時計皿で覆い, 電熱器又はホットプレートで煮沸溶解した. 放冷後, 全量フラスコ 250 mL に移し, 標線まで水を加えて試料溶液とした. なお, 分析試料のうち溶解しない材料分を含有しているものは, 5 分程度煮沸溶解し, 定容した後にろ紙(3 種)でろ過し, 試料溶液とした.

試料溶液の一定量をトールビーカー300 mL にとり, 水約 50 mL 及び過酸化水素約 5 mL を加え, 少時攪拌した後, 80 °C~90 °C の水浴上でときどきかき混ぜながら約 1 時間加熱した. 少時放冷後, フェノールフタレイン溶液を 1~2 滴を加え, 塩酸(2+1)で中和した後, 全量フラスコ 200 mL に移し, 水を加えて定容した. なお,

三酸化硫黄として 100 %以上含有している試料の場合は、一定量を分取して水で希釈した。更に 0.3 μm のガラスろ紙でろ過して試料液とした。

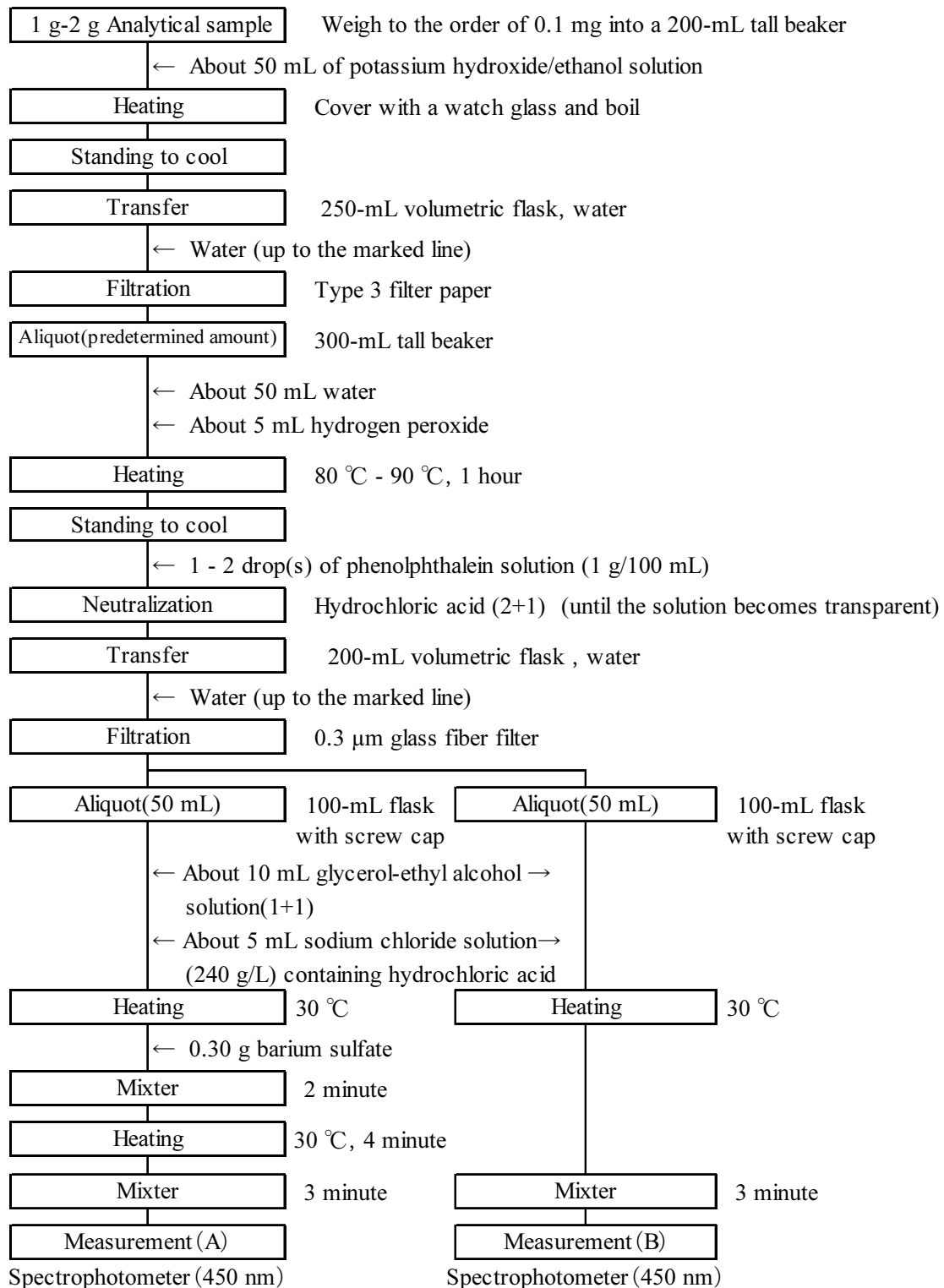


Fig. 1 Flow sheet for total sulfur content in fertilizers

試料溶液を2個のネジロ三角フラスコ 100 mL に 50 mL ずつ正確にとり、これにグリセリン-エタノール溶液 (1+1) 約 10 mL 及び塩化ナトリウム溶液約 5 mL を加えた。30 °C の水浴上で定温となるまで加温した。一方のネ

ジロ三角フラスコの試料溶液を水浴から取り出し塩化バリウム0.30 gを加え、マグネチックスターラーで約2分間かき混ぜた後、30℃の水浴上で約4分間放置した。再び水浴から取り出しマグネチックスターラーで約3分間かき混ぜた後、かき混ぜている状態の試料液について自動試料導入装置を付属した分光光度計に導入し、検量線用空試験液を対照液として波長450 nmの吸光度(A)を測定した。他方のネジロ三角フラスコの試料溶液は、水浴から取り出しマグネチックスターラーで約3分間かき混ぜた後、塩化バリウム添加の試料溶液と同様に吸光度(B)を測定した。

あらかじめ硫酸塩標準液を正確に希釈した数段階の標準液(SO₃ 0.02 mg/mL～0.1 mg/mL)を50 mLずつ分取し、試料液と同様の操作を行って検量線用硫酸塩標準液の硫酸塩濃度と吸光度との検量線を作成した。塩化バリウムを添加した試料溶液の吸光度(A)から塩化バリウム無添加の試料溶液の吸光度(B)を差し引いて求めた補正吸光度と検量線から試料溶液中の硫酸塩濃度を求め、分析試料中の硫黄分全量を算出した(Fig.1)。

3. 結果及び考察

1) 検量線の作成

硫酸塩標準液(SO₃ 2 mg/mL)の一定量を水で正確に希釈し、1 mL中にSO₃として0.02 mg, 0.04 mg, 0.06 mg, 0.08 mg, 0.1 mgを含有する標準液を調製した。硫酸塩標準液(SO₃ 0.02 mg/mL～0.1 mg/mL)各50 mLをネジロ三角フラスコにとり、2.4)の方法に従って硫酸バリウムの沈殿を生成させて、分光光度計で吸光度を測定した。その結果はFig.2のとおり、検量線はSO₃として1 mg/65 mL～5 mg/65 mLの範囲で直線性(決定係数1.000)を示した。ただし、回帰直線は付近原点を通らず、回帰式から算出した吸光度0の時のSO₃の予測値は0.4 mg/65 mL程度であった。このことから、補正した吸光度がSO₃として1 mg/65 mL～5 mg/65 mLの範囲であることが重要な条件となった。

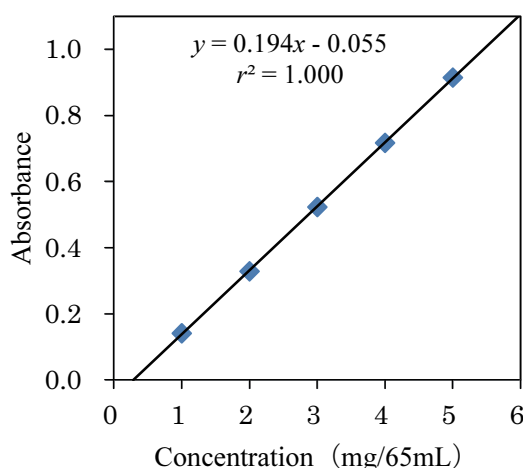


Fig.2 Calibration curve of sulfur trioxide

2) 併行試験成績

2.4)の方法による併行精度を確認するため、6銘柄の肥料を用いて3点併行試験を実施して得られた結果をTable 2に示した。平均定量値は質量分率3.21%～248%であり、その標準偏差及び相対標準偏差は質量分率

0.01 %～6 %及び 0.2 %～2.4 %であった。

重量法による測定値に対する割合は 87.8 %～103.0 %であった。また、試料 1 及び試料 2 の原料組成に対する割合は 98.4 %～99.4 %であった。

Table 2 The results (as sulfur trioxide) of repeated test

| Sample No. | Mean ¹⁾ (A) (%) ²⁾ | s ³⁾ (%) ²⁾ | RSD ⁴⁾ (%) | Mean by previous method ⁵⁾ (W) (%) ²⁾ | Compared with previous method ⁶⁾ (%) | Compared with theoretical value ⁷⁾ (%) |
|------------|---|--------------------------------------|--------------------------|--|--|--|
| 1 | 248 | 6 | 2.4 | 247 | 100.5 | 99.4 |
| 2 | 246 | 2 | 0.8 | 246 | 99.7 | 98.4 |
| 3 | 55.8 | 0.4 | 0.7 | 54.2 | 103.0 | |
| 4 | 116 | 2 | 1.7 | 132 | 87.8 | |
| 5 | 17.0 | 0.04 | 0.2 | 17.3 | 98.4 | |
| 6 | 3.21 | 0.01 | 0.4 | 3.28 | 97.8 | |

1) Mean of the result obtained by analyzing three samples using turbidimetry method

2) Mass fraction

3) Standard deviation

4) Relative standard deviation

5) Mean of the result obtained by analyzing three samples using gravimetry method

6) (A/W)×100

7) (A/249.69)×100

Theoretical value of sulfur trioxide: 249.69 (mass %)

3) 定量下限の確認

硫黄(試薬)を材料と混合して硫黄分全量として質量分率 1.0 %相当量に調製した試料について、10 点併行試験を実施して得られた結果を Table 3 に示した。平均定量値は質量分率 1.06 %であり、その標準偏差は質量分率 0.03 %であった。定量下限は標準偏差×10、また、検出下限は標準偏差×2×t(n-1,0.05)として示されるので、本法の定量下限及び検出下限は質量分率 0.3 % 程度及び質量分率 0.1 % 程度と推定されたが、検量線で使用する一番低い硫酸塩標準液は SO₃ として 1 mg/65 mL であることから定量下限は質量分率 1 % 程度と考えられた。

Table 3 Limit of quantitation and detection of sulfur trioxide (mass %)

| Analyte | Mean ¹⁾ | s ²⁾ | LOQ ³⁾ | LOD ⁴⁾ |
|----------------|--------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| sulfur mixture | 1.06 | 0.03 | 0.3 | 0.1 |

1) Mean of the result obtained by analyzing ten samples

2) Standard deviation

3) Standard deviation×10

4) Standard deviation×2×t(n-1, 0.05)

4. まとめ

硫黄及び硫黄化合物を主原料とする肥料中の硫黄分全量の試験法として下水汚泥分析方法を参考に透過光測定法を検討したところ、次の結果を得た。

透過光測定法における硫酸塩標準液の検量線は、 SO_3 として 1 mg/65 mL～5 mg/65 mL の範囲で直線性を示した。併行試験を実施したところ、平均定量値は質量分率 3.21 %～248 %の範囲において、その相対標準偏差は 0.2 %～2.4 %であった。併行試験に使用した試料のうち組成が硫黄だけで構成されている試料 1 及び試料 2 の定量値は硫黄の理論値質量分率 249.69 %に対し、98.4 %以上であった。また、本法の定量下限は試料中の硫黄分全量として質量分率 1 %程度と推定された。

文 献

- 1) 肥料取締法:昭和 25 年 5 月 1 日, 法律第 127 号, 最終改平成 23 年 8 月 30 日, 法律第 105 号 (2011)
- 2) 農林水産省告示:肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林省告示第 44 号 (2012)
- 3) 農林水産省告示:肥料取締法第十七条第一項第三号の規定に基づき, 肥料取締法第四条第一項第三号に掲げる普通肥料の保証票にその含有量を記載する主要な成分を定める件, 平成 12 年 1 月 27 日, 農林水産省告示第 96 号, 最終改正平成 13 年 3 月 15 日, 農林水産省告示第 337 号 (2001)
- 4) JIS K 8088, 硫黄(試薬) (2010)
- 5) 日本下水道協会:下水汚泥分析方法 -2007 年版-, p132～134, 東京 (2007)
- 6) 杉村靖:硫黄及び硫黄化合物を含む肥料中の硫黄分全量測定 —重量法の適用—, 肥料研究報告, **4**, 9～15, (2011)
- 7) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 8) JIS K 8001, 試薬試験方法通則 (2009)

Method Validation of Turbidimetry for Determination of Sulfur Content (as Sulfur Trioxide) in Fertilizers of Sulfur, Sulfuric acid and Its Mixture

Yasushi SUGIMURA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center
(Now) Nagoya Regional Center

This paper describes a method using a turbidimetry for the determination of sulfur content (as sulfur trioxide) in fertilizers containing sulfur, sulfuric acid and its mixture. The solid samples were dissolved in potassium hydroxide (0.2 g/mL)-ethanol (1+1) solution. Sulfur in extract or in the liquid sample was oxidized to sulfate ion (SO_4^{2-}) with hydrogen peroxide. After addition of glycerol-ethanol (1+1) solution and sodium chloride solution containing hydrochloric acid, precipitated barium sulfate by adding barium chloride solution to sulfate ions. The barium sulfate suspension stirred with magnetic stirrer was placed in a cell of spectrophotometer by suction, and its absorption was measured at 450 nm. Sulfur content in the sample was proportional to the amount of barium sulfate in the suspension. The accuracy and the precision of the method were assessed from 3 replicate measurements of 6 samples. The mean value was from 3.21 % to 248 %, and the relative standard deviations were from 0.2 to 2.4 %. Except for one sample, quantitative value of this method was the result of substantially equal quantitative value of the gravimetric method. On the basis of 10 replicate measurements of a sample with 1 % of sulfur content, the LOQ value was estimated at 0.3 %. These results have been shown that this method is valid in determining the sulfur content in fertilizers contains sulfur and sulfuric acid.

Key words sulfur , sulfuric acid , turbidimetry , spectrophotometer

(Research Report of Fertilizer, 6, 20~26, 2013)

4 高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による肥料中の メラミン及びその関連物質の同時測定

坂東悦子¹, 白井裕治²

キーワード メラミン, アンメリン, アンメリド, シアヌル酸, 石灰窒素, 肥料,
高速液体クロマトグラフ

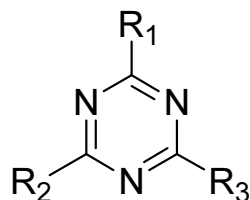
1. はじめに

メラミンはその分子構造の中心にトリアジン環を持つ有機窒素化合物で、尿素を原料として製造される。メラミン由来の窒素は土壌中において無機化しないか又は遅く、有効性が認められておらず、日本国内では肥料として流通していない。また、現時点では肥料取締法に基づく公定規格においてメラミンに関する基準値等はない。

今般、石灰窒素(肥料・農薬)のうち石灰窒素粉状品に水を加えて造粒した粒状製品について、メラミンの含有量が高い製品があることが確認された¹⁾。メラミンは作物によっては吸収し蓄積することがあり²⁾、メラミンとその関連物質であるシアヌル酸が同時に生体内に取り込まれることで健康被害を引き起こすことが知られている³⁾。このため、公定規格におけるメラミンに関する基準設定等の検討を行うこととなった。

肥料中のメラミンに関する基準設定等の検討を行うにあたり、メラミン及びその関連物質であるアンメリン、アンメリド及びシアヌル酸(以下「メラミン等」という(Fig.1).)の分析方法を確立する必要がある。肥料中のメラミン等の試験法としては、ガスクロマトグラフ質量分析計(以下「GC-MS」という.)法⁴⁾及び高速液体クロマトグラフ(以下「HPLC」という.)法⁵⁾が報告されているが、GC-MS法は操作が煩雑であり、また、誘導体化後の試料溶液中の余剰試薬がGC-MSの試料溶液導入部及びイオン化部にダメージを与える。HPLC法は誘導体化操作を必要としない迅速で汎用性のある試験法であるが、石灰窒素中のメラミンに限定した分析方法であり、アンメリン、アンメリド及びシアヌル酸を定量するには更なる検討が必要である。

今回、既存のHPLC法を参考に、石灰窒素中のメラミン等の同時測定法を検討し、石灰窒素以外の肥料にも適用可能か検討したので、概要を報告する。



| Substancen name | R ₁ | R ₂ | R ₃ | MW | N-Content (%) |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------|---------------|
| Melamine | NH ₂ | NH ₂ | NH ₂ | 126.12 | 67 |
| Ammeline | OH | NH ₂ | NH ₂ | 127.10 | 55 |
| Ammelide | OH | OH | NH ₂ | 128.09 | 44 |
| Cyanuric acid | OH | OH | OH | 129.07 | 33 |

Fig.1 Chemical structural formula of melamine and its related substances

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部 (現)札幌センター

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

2. 材料及び方法

1) 分析用試料の調製

石灰窒素 7 種類, 石灰窒素を含む化成肥料 4 種類, 石灰窒素を含む有機入り化成肥料 1 種類, 石灰窒素を含まない化成肥料 5 種類, 配合肥料 1 種類, 硫酸アンモニア 1 種類及び尿素 1 種類をそれぞれ目開き 0.5 mm のふるいを通し, 通過したものを分析用試料とした. 分析用試料はビニール袋に入れ, 常温で保存した.

2) 試薬等の調製

- (1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 の水.
- (2) アセトニトリル: JIS K 8032 に規定する特級試薬. なお, HPLC の溶離液には HPLC 用試薬を使用.
- (3) ジエチルアミン: 特級試薬.
- (4) 塩酸: 有害金属測定用試薬.
- (5) リン酸塩緩衝液: JIS K 9020 に規定するリン酸水素二ナトリウム 0.237 g 及び JIS K 9009 に規定するリン酸二水素ナトリウム二水和物 0.520 g を水に溶かして 1,000 mL とした. HPLC の溶離液に使用する場合は, 親水性 PTFE 製のメンブレンフィルター(孔径 0.5 μm 以下)でろ過した.
- (6) メラミン等標準液 (0.5 mg/mL): メラミン [$\text{C}_3\text{H}_6\text{N}_6$], アンメリン [$\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_5\text{O}$], アンメリド [$\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$] 及びシアヌル酸 [$\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_3$] 約 0.05 g をそれぞれひょう量皿にとり, その質量を 0.1 mg の桁まではかった. 少量の塩酸 (1+15) で溶かし, それぞれ全量フラスコ 100 mL に移し入れ, 標線まで同溶液を加えた.
- (7) 混合標準液 (50 $\mu\text{g/mL}$): 各メラミン等標準液 (0.5 mg/mL) 5 mL を全量フラスコ 50 mL にとり, 標線までアセトニトリル-リン酸塩緩衝液 (4+1) を加えた.
- (8) 検量線用混合標準液 (1 $\mu\text{g/mL}$ ~ 5 $\mu\text{g/mL}$): 使用時に混合標準液 (50 $\mu\text{g/mL}$) の 1 ~ 5 mL を全量フラスコ 50 mL に段階的にとり, 標線までアセトニトリル-リン酸塩緩衝液 (4+1) を加えた.
- (9) 検量線用混合標準液 (0.05 $\mu\text{g/mL}$ ~ 0.5 $\mu\text{g/mL}$): 使用時に検量線用混合標準液 (1 $\mu\text{g/mL}$) の 2.5 ~ 25 mL を全量フラスコ 50 mL に段階的にとり, 標線までアセトニトリル-リン酸塩緩衝液 (4+1) を加えた.

3) 器具及び装置

- (1) 高速液体クロマトグラフ (HPLC): 島津製作所 LC-VP シリーズ
- (2) 分析カラム: 東ソー TSKgel Amide-80 (内径 4.6 mm, 長さ 250 mm, 粒径 5 μm)
- (3) 分析ガードカラム: 東ソー TSKgel guardgel Amide-80 (内径 3.2 mm, 長さ 15 mm)
- (4) 超音波発生器: YAMATO 8510J-MT
- (5) 遠心分離機: コクサン H-26F
- (6) 高速遠心分離機: AS ONE MCD-2000

4) 試験操作

(1) 抽出

分析試料 0.50 g をはかりとり, 共栓三角フラスコ 200 mL に入れた. 抽出溶液を 100 mL 加え, 超音波発生器を用いて 30 分間超音波処理を行った. 静置後, 上澄み液を 50 mL 容の共栓遠心沈殿管にとり, 2,000 $\times g$ で約 5 分間遠心分離し, 上澄み液を抽出液とした. 抽出液の一定量を 50 mL 容の全量フラスコにとり, 標線までアセトニトリル-リン酸塩緩衝液 (4+1) を加えて希釈した. 希釈液を 1.5 mL 容の共栓遠心沈殿管にとり, 8,000 $\times g$ で約 5 分間遠心分離し, 上澄み液を HPLC 測定用試料溶液とした (Fig.2).

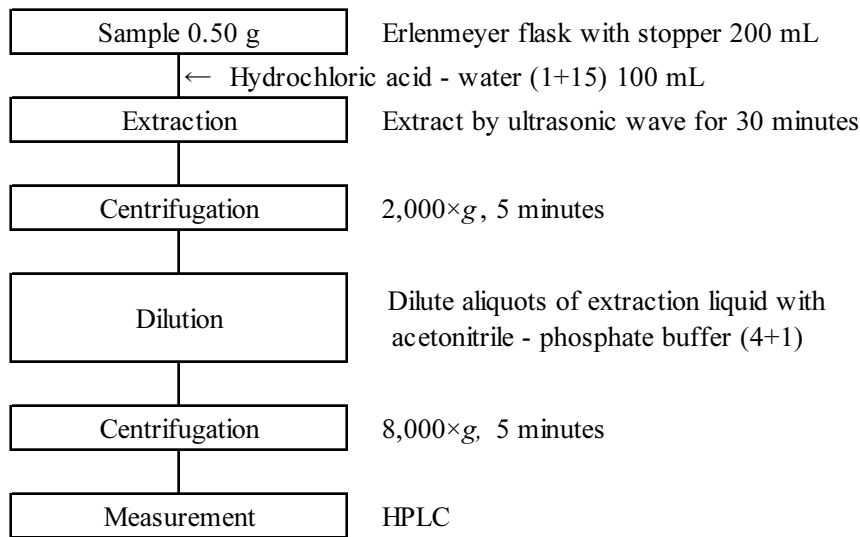


Fig.2 Method flow sheet of melamine and its related substances in fertilizer

(2) 測定

各検量線用混合標準液 10 μ L を HPLC に注入し、Table 1 の HPLC 条件で測定し、得られたピーク面積から検量線を作成した。試料溶液 10 μ L を HPLC に注入し、ピーク面積から検量線により試料溶液中のメラミン等の量を求め、分析試料中の濃度を算出した。

Table 1 HPLC conditions

| | |
|---------------------|--|
| HPLC system | Shimadzu corporation LC-VP series |
| Column | TOSOH corporation TSKgel Amide-80 (4.6 mm×250 mm, 5 μ m particle size) |
| Guard column | TOSOH corporation TSKgel guardgel Amide-80 (3.2 mm×15 mm) |
| Column temperatures | 40 °C |
| Mobile phase | Acetonitrile - phosphate buffer (4+1) |
| Flow rate | 1.0 mL/min |
| Detector system | UV detector at a wavelength of 214 nm |

3. 結果及び考察

1) 測定条件

メラミン等検量線用混合標準液(各 1 μ g/mL 相当量)の HPLC クロマトグラムを Fig.3 に示した。東ソー株式会社のカラムのテクニカルインフォメーション⁶⁾を参考に HPLC 条件(Table 1)を設定したところ、メラミン等の各ピーク形状及び分離度は満足するものであった。0.05 μ g/mL～5 μ g/mL 相当量の検量線用混合標準液を調製し、本法に従って検量線を作成した。その結果、0.05 μ g/mL～5 μ g/mL 相当量の範囲で直線性のある検量線が得られた(Fig.4)。

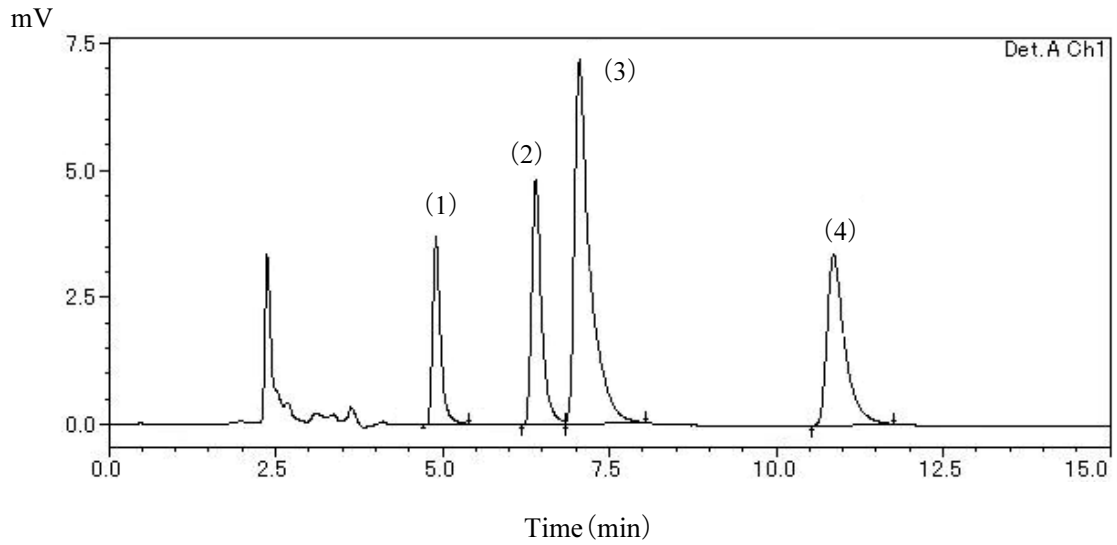


Fig.3 HPLC chromatogram of melamine and its related substances standards
 Substance name (1) Cyanuric acid (2) Ammelide (3) Melamine (4) Ammeline

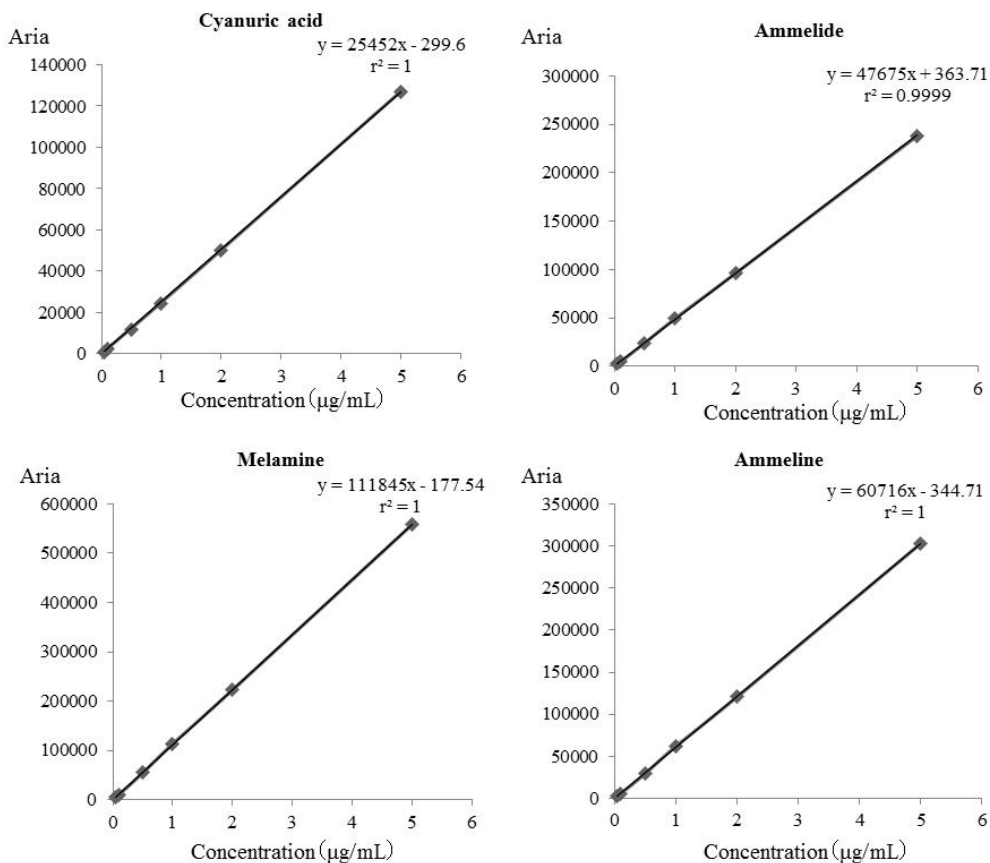


Fig. 4 Calibration curve for melamine and its related substances

2) 抽出溶液の検討

石灰窒素 1 種類及び硫酸アンモニア 1 種類にメラミン等として 4% (質量分率) 添加し、抽出溶液の検討を行った結果を Table 2 に示した。

HPLC を用いた石灰窒素中のメラミン等の分析方法としては、アセトニトリル-水-ジエチルアミン(5+4+1)を抽出溶液として用いる試験方法が報告されているが⁵⁾、本抽出溶液では石灰窒素中のシアヌル酸は検出されず、アンメリン、アンメリドについても十分な回収率が得られなかった。また、硫酸アンモニア中のアンメリンについても十分な回収率が得られなかった。抽出溶液としてアセトニトリル-水-ジエチルアミン(5+4+1)の代わりに塩酸(1+30)を用いることで、石灰窒素中のメラミン等の回収率がほぼ 90 %以上となったが、硫酸アンモニア中のシアヌル酸については十分な回収率が得られなかった。さらに塩酸を添加して、塩酸(1+15)を抽出溶液として用いたところ、石灰窒素、硫酸アンモニアともに十分な回収率が得られたので、塩酸(1+15)を抽出溶液として用いることとした。

Table 2 Comparison of extraction solvent

| Extraction solvent | Sample | Content (%) ¹⁾ | pH of extract | Recovery (%) | | | |
|--|-------------------|---------------------------|---------------|---------------|----------|----------|----------|
| | | | | Cyanuric acid | Ammelide | Melamine | Ammeline |
| Acetonitril-water-diethylamine (5+4+1) | Ammonium sulfate | 4 | > 12 | 94.5 | 92.5 | 90.5 | 82.3 |
| | Calcium cyanamide | 4 | > 12 | N.D. | 85.3 | 96.0 | 94.4 |
| Hydrochloric acid-water (1+30) | Ammonium sulfate | 4 | 0.6 | 64.4 | 86.0 | 96.4 | 85.5 |
| | Calcium cyanamide | 4 | 0.7 | 95.7 | 96.7 | 97.9 | 88.7 |
| Hydrochloric acid-water (1+15) | Ammonium sulfate | 4 | 0.3 | 107.9 | 105.3 | 111.0 | 108.5 |
| | Calcium cyanamide | 4 | 0.3 | 96.4 | 100.6 | 102.7 | 101.2 |

1) Mass fraction

3) マトリックスの影響

市販の石灰窒素を含まない化成肥料 5 種類、配合肥料 1 種類、尿素 1 種類及び硫酸アンモニア 1 種類を本法に従って測定したところ、化成肥料、配合肥料、硫酸アンモニアについては定量を妨害する夾雑ピークは認められなかった。尿素についてはシアヌル酸が 0.05 % (質量分率) 程度検出された。なお、石灰窒素 7 種類及び石灰窒素を含む化成肥料 4 種類については、一部の試料でメラミン、アンメリド及びアンメリンが検出されたが、測定対象物質付近に定量を妨害するピークは認められなかった。石灰窒素を含む有機入り化成肥料 1 種類については、測定対象物質付近に定量を妨害するピークが認められたため、有機質を含む肥料に関しては測定対象から除くこととした。

4) 添加回収試験

石灰窒素 3 種類、石灰窒素入り化成肥料 1 種類、石灰窒素を含まない化成肥料 2 種類、硫酸アンモニア 1 種類及び尿素 1 種類にメラミン等として 4 % (質量分率) 及び 0.1 % (質量分率) をそれぞれ添加し、3 点併行で添加回収試験を実施した結果を Table 3 に示した。石灰窒素 1 種類におけるシアヌル酸 0.1 % (質量分率) 添加回収試験を除き、回収率はシアヌル酸で 90.5 % ~ 103.3 % 及び 93.6 % ~ 107.0 %、アンメリドで 97.7 % ~ 106.1 % 及び 96.0 % ~ 104.9%、メラミンで 96.1 % ~ 102.8 % 及び 92.2 % ~ 100.8 %、アンメリンで 94.7 % ~ 106.3 % 及び 95.3 % ~ 106.7 % とほぼ満足な結果が得られた。相対標準偏差についても、シアヌル酸で 0.5 % ~ 4.7 % 及び 0.5 % ~ 3.3 %、アンメリドで 0.5 % ~ 3.5 % 及び 0.3 % ~ 2.3%、メラミンで 0.7 % ~ 4.5 % 及び 1.0 % ~ 4.2 %、アンメリンで 1.6 % ~ 2.2 % 及び 0.3 % ~ 2.4 % とほぼ満足な結果が得られた。

Table 3 の石灰窒素-3 については、シアヌル酸のピークに隣接するジシアンジアミドのピークが大きく (Fig.5 左)、メラミン等として 0.1 % (質量分率) 添加した回収試験においてシアヌル酸を定量することが困難であった。

ジシアンジアミドとシアヌル酸のピークを分離するため、HPLC 用溶離液の比率をアセトニトリル-りん酸塩緩衝液 (17+3) に変更して分析を行ったところ、シアヌル酸の定量が可能な程度にピークを分離することができた (Fig.5 右). 回収率及び相対標準偏差についても、94.1 %及び 2.6 %と良好な結果が得られた. 今後ジシアンジアミドの含有量が多いサンプルを分析する際には、低濃度のシアヌル酸の定量を行うときのみ HPLC 用溶離液の比率をアセトニトリル-りん酸塩緩衝液 (17+3) に変更して分析を行うこととした.

Table 3 Accuracy result and repeatability precision

| Sample | Content (%) ¹⁾ | Cyanuric acid | | Ammelide | | Melamine | | Ammeline | |
|--|---------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| | | Mean ²⁾ (%) | RSD ³⁾ (%) | Mean ²⁾ (%) | RSD ³⁾ (%) | Mean ²⁾ (%) | RSD ³⁾ (%) | Mean ²⁾ (%) | RSD ³⁾ (%) |
| Calcium cyanamide-1 | 4 | 100.5 | 3.0 | 104.5 | 0.6 | 102.8 | 2.6 | 96.7 | 1.6 |
| | 0.1 | 102.8 | 0.5 | 97.0 | 2.1 | 97.2 | 3.7 | 96.6 | 2.1 |
| Calcium cyanamide-2 | 4 | 99.9 | 2.5 | 106.1 | 3.5 | 99.1 | 1.5 | 103.3 | 2.2 |
| | 0.1 | 99.4 | 3.2 | 98.9 | 1.5 | 98.6 | 2.9 | 106.7 | 1.9 |
| Calcium cyanamide-3 | 4 | 100.1 | 0.5 | 105.1 | 0.7 | 102.4 | 2.3 | 98.4 | 0.8 |
| | 0.1 | 94.1 | 2.6 | 98.0 | 2.3 | 92.9 | 4.2 | 101.4 | 0.3 |
| Compound fertilizer containing Calcium cyanamide | 4 | 90.5 | 3.5 | 103.5 | 3.0 | 100.4 | 3.4 | 100.4 | 1.6 |
| | 0.1 | 100.9 | 2.5 | 97.6 | 1.3 | 96.9 | 1.9 | 97.7 | 1.9 |
| Compound fertilizer-1 | 4 | 103.3 | 0.9 | 102.0 | 2.3 | 96.1 | 0.7 | 94.7 | 1.0 |
| | 0.1 | 101.1 | 3.3 | 96.0 | 1.2 | 90.8 | 1.0 | 96.6 | 1.2 |
| Compound fertilizer-2 | 4 | 99.6 | 2.3 | 101.5 | 1.4 | 100.3 | 1.8 | 101.9 | 1.3 |
| | 0.1 | 93.6 | 2.9 | 98.8 | 0.7 | 96.7 | 1.3 | 95.3 | 2.4 |
| Ammonium sulfate | 4 | 97.6 | 2.1 | 104.6 | 2.2 | 102.0 | 4.5 | 106.3 | 2.1 |
| | 0.1 | 107.0 | 0.7 | 96.5 | 0.7 | 92.2 | 1.1 | 100.4 | 0.5 |
| Urea | 4 | 93.4 | 4.7 | 97.7 | 0.5 | 100.7 | 1.6 | 103.1 | 2.1 |
| | 0.1 | 100.5 | 2.9 | 104.9 | 0.3 | 100.8 | 1.2 | 100.2 | 0.6 |

1) Mass fraction

2) $n=3$

3) Relative standard deviation

4) 定量下限の確認

石灰窒素 1 種類を用いたメラミン等の定量下限確認の試験結果を Table 4 に示した. メラミンを 0.06 % (質量分率) 程度含む分析試料にシアヌル酸, アンメリド, アンメリンを含有量として 0.04 % (質量分率) となるように添加して 7 点併行試験を実施したところ, 本法の定量下限はシアヌル酸で 0.02 % (質量分率) 程度, アンメリドで 0.01 % (質量分率) 程度, メラミンで 0.02 % (質量分率) 程度, アンメリンで 0.01 % (質量分率) 程度と推定された. また, 本法の検出下限はシアヌル酸で 0.007 % (質量分率) 程度, アンメリドで 0.004 % (質量分率) 程度, メラミンで 0.008 % (質量分率) 程度, アンメリンで 0.003 % (質量分率) 程度と推定された.

なお, HPLC 用溶離液の比率をアセトニトリル-りん酸塩緩衝液 (17+3) に変更した際のシアヌル酸の定量下限は 0.02 % (質量分率) 程度, 検出下限は 0.006 % (質量分率) 程度と推定され, 溶媒比率変更後も同程度の定量下限及び検出下限であった (Table 5).

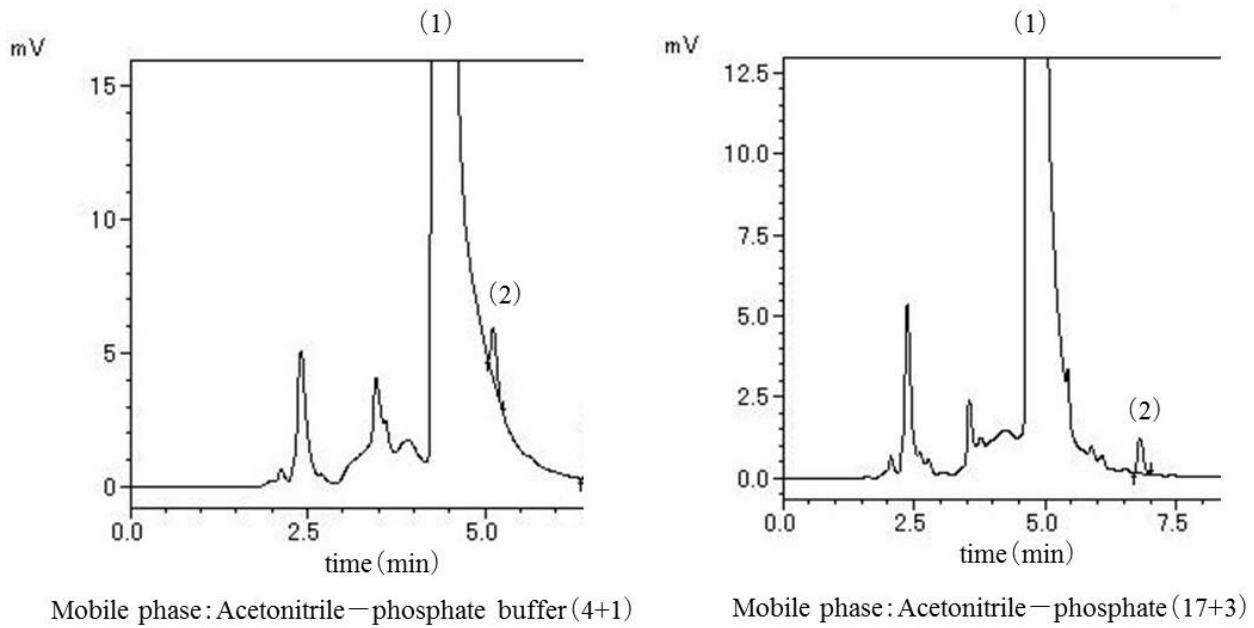


Fig.5 HPLC chromatogram of dicyandiamide and cyanuric acid
Substance name (1) Dicyandiamide (2) Cyanuric acid

Table 4 Calculated LOQ and LOD values (Mobile phase: Acetonitrile - phosphate buffer (4+1))

| Substancen name | Content (%) ⁵⁾ | Mean ¹⁾ (%) ⁵⁾ | SD ²⁾ (%) ⁵⁾ | LOQ ³⁾ (%) ⁵⁾ | LOD ⁴⁾ (%) ⁵⁾ |
|-----------------|------------------------------|---|---------------------------------------|--|--|
| Cyanuric acid | 0.04 | 0.038 | 0.002 | 0.02 | 0.007 |
| Ammelide | 0.04 | 0.036 | 0.001 | 0.01 | 0.004 |
| Melamine | - | 0.059 | 0.002 | 0.02 | 0.008 |
| Ammeline | 0.04 | 0.043 | 0.001 | 0.01 | 0.003 |

- 1) $n=7$
- 2) Standard deviation
- 3) Standard deviation $\times 10$
- 4) Standard deviation $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$
- 5) Mass fraction

Table 5 Calculated LOQ and LOD values (Mobile phase: Acetonitrile - phosphate buffer (17+3))

| Substancen name | Content (%) ⁵⁾ | Mean ¹⁾ (%) ⁵⁾ | SD ²⁾ (%) ⁵⁾ | LOQ ³⁾ (%) ⁵⁾ | LOD ⁴⁾ (%) ⁵⁾ |
|-----------------|------------------------------|---|---------------------------------------|--|--|
| Cyanuric acid | 0.04 | 0.038 | 0.002 | 0.02 | 0.007 |

- 1) $n=7$
- 2) Standard deviation
- 3) Standard deviation $\times 10$
- 4) Standard deviation $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$
- 5) Mass fraction

4. まとめ

肥料中のメラミン及びその関連物質の試験法の検討を行ったところ、次のとおりの成績を得た。

- 1) 抽出溶媒の検討を行った結果、塩酸(1+15)を抽出溶液として用いることとした。
- 2) 市販の肥料についてメラミン等の測定を実施した結果、尿素でシアヌル酸が0.05%(質量分率)程度検出されたことを除き、定量を妨害する夾雑ピークは検出されなかった。石灰窒素及び石灰窒素を含む化成肥料については、一部試料でメラミン、アンメド及びアンメリンが検出されたが、測定対象物質付近に定量を妨害するピークは認められなかった。石灰窒素を含む有機入り化成肥料については、測定対象付近に定量を妨害するピークが認められたため、有機質を含む肥料に関しては測定対象から除くこととした。
- 3) メラミン等の含有量が4%(質量分率)及び0.1%(質量分率)になるよう添加した8種類の肥料を用いて回収試験を実施した結果、平均回収率は90.5%~106.3%及び92.2%~107.0%、相対標準偏差0.5%~4.7%及び0.3%~4.2%とほぼ満足な回収率と併行精度が得られた。
- 4) 本法の定量下限及び検出下限は、シアヌル酸で0.02%(質量分率)及び0.007%(質量分率)程度、アンメドで0.01%(質量分率)及び0.004%(質量分率)程度、メラミンで0.02%(質量分率)及び0.008%(質量分率)程度、アンメドで0.01%(質量分率)及び0.003%(質量分率)程度と推定された。

文 献

- 1) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課長通知:石灰窒素の肥料登録に関する当面の取扱いについて、平成23年4月15日、23消安第524号(2011)
- 2) 阿部文浩, 八木寿治, 坂東悦子:メラミンを添加した土壌におけるコマツナに対する害の確認試験とメラミン等の吸収, 肥料研究報告, **5**, 101~107(2012)
- 3) 食品安全委員会:メラミン等による健康影響について, 平成20年10月9日(2008)
- 4) 白井裕治, 大木純:ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)法による肥料中のメラミン及びその関連物質の同時測定, 肥料研究報告, **1**, 114~121(2008)
- 5) 坂東悦子, 廣井利明, 恵智正宏, 白井裕治:高速液体クロマトグラフ(HPLC)法による石灰窒素中のメラミン及びその関連物質の同時測定, 肥料研究報告, **5**, 24~30(2012)
- 6) 東ソー株式会社:テクニカルインフォメーション No.109 順相クロマトグラフィーによるメラミン及びその加水分解物の分析
<<http://www.separations.asia.tosohbioscience.com/NR/rdonlyres/7F1EAA68-798B-494F-B4C5-487A397B5536/0/109.pdf>>

Validation of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) for Determination of Melamine and Its Related Substances in Fertilizer

Etsuko BANDO¹ and Yuji SHIRAI²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Sapporo Regional Center

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method for determination of melamine and its related substances, in fertilizer was validated. The melamine and its related substances were extracted with hydrochloric acid-water (1+15). The extract was centrifuged, and a portion of the supernatant was diluted with mobile phase. The melamine and its related substances were analyzed by HPLC on carbamoyl-modified silica gel column with UV detection at 214 nm.

As a result of 3 replicate analysis of 8 fertilizer samples, the mean recoveries and the relative standard deviations (RSD) were 90.5 % ~ 107.0 % and 0.3 % ~ 4.7 %, respectively. On the basis of 7 replicate measurements of melamine and its related substances added samples the LOQ values were 0.01 % ~ 0.02 % for all melamine and its related substances samples. The results demonstrated the validity of the HPLC method for determination of melamine and its related substances in fertilizer. However, this method was not applicable to fertilizer containing organic matter.

Key words melamine, ammeline, ammeliid, cyanuric acid, calcium cyanamid, fertilizer, HPLC

(Research Report of Fertilizer, **6**, 27~35, 2013)

5 化成肥料中の硝酸化成抑制材 1-アミジノ-2-チオ尿素の測定

— 共同試験成績 —

甲斐茂浩¹, 渡部絵里菜¹

キーワード 肥料, 硝酸化成抑制材, 高速液体クロマトグラフ, 共同試験

1. はじめに

現在, 農林水産消費安全技術センター (FAMIC) では, 肥料分析法¹⁾との整合性に配慮しながら新たに試験法の妥当性の確認を行い, 「肥料等試験法」²⁾を策定し, 肥料試験業務等への活用を進めている. 肥料分析法に記載されている硝酸化成抑制材 1-アミジノ-2-チオ尿素の高速液体クロマトグラフ法による試験法は, 千葉³⁾により真度及び併行精度, また, 白澤⁴⁾により定量下限が報告され ISO/IEC 17025⁵⁾で要求されている試験室内における試験方法の妥当性確認がなされたところである. しかしながら, 同基準の要求事項である試験所間の比較試験が実施されていなかった. よって, IUPAC の共同試験プロトコル⁶⁾を参考に 1-アミジノ-2-チオ尿素試験法の共同試験を実施し, 試験室間の再現精度を調査したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 共同試験用試料の調製

流通している化成肥料 約 2 kg を収集し, ビニール袋に入れて密封して常温で保存した. 超遠心粉碎機 (Retsch ZM100) で目開き 500 μm のふるいを全通するまで粉碎したものに, 1-アミジノ-2-チオ尿素を添加し, よく混合して 5 種類の濃度の共同試験用試料を調製した.

共同試験用試料は約 1.5 g をラミジップ袋に入れ密封した. 一対のブラインド試料を提供するため, 乱数を付して各濃度試料 2 袋 (計 10 点) を参加試験室に送付した.

2) 装置

各試験室に設置している高速液体クロマトグラフを使用した.

3) 1-アミジノ-2-チオ尿素の測定

分析試料 1.00 g を共栓付き三角フラスコ 200 mL にはかりとり, 水 100 mL を加え 10 分間振り混ぜた. 上澄み液を共栓遠心沈殿管 50 mL にとり, 遠心力 2,000 $\times g$ で 5 分間遠心分離, またはろ紙 (3 種) でろ過した. その上澄み液またはろ液 10 mL を全量フラスコ 50 mL にとり, 標線まで水を加えた. これを共栓遠心沈殿管 1.5 mL に移し, 遠心力 8,000 $\times g$ で 5 分間遠心分離, または PTFE メンブランフィルター (孔径 0.5 μm 以下) でろ過し, 上澄み液またはろ液を試料溶液とした (Fig 1). その試料溶液を高速液体クロマトグラフに供し, Table 1 の測定条件で測定し, ピーク面積又は高さから試料溶液中の 1-アミジノ-2-チオ尿素の量を求め, 分析試料中の 1-アミジノ-2-チオ尿素濃度を算出した.

測定にあたっては, 各試験室の高速液体クロマトグラフの操作方法に従った.

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

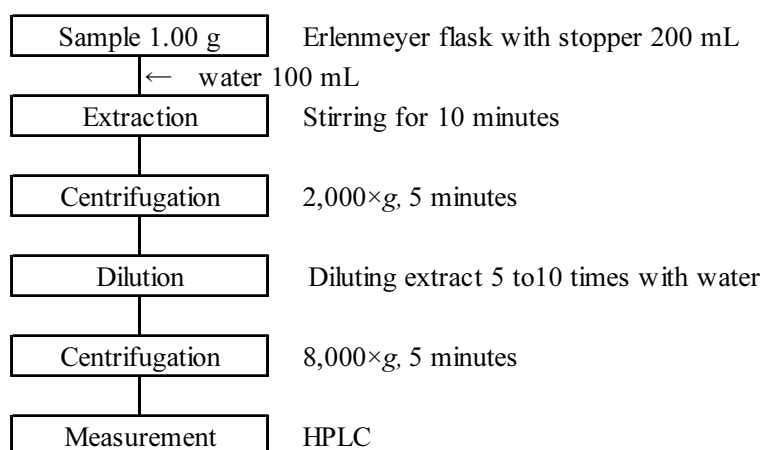


Fig. 1 Analytical procedure for 1-amidino-2-thiourea

Table 1 HPLC conditions

| | |
|---------------------|--|
| Column | ODS column ¹⁾ |
| Column temperatures | 30 ~ 40 °C |
| Mobile phase | Dissolve 0.94 g of sodium 1-hexasulfonic acid in 1,000 mL of methanol water (2+8), adjust to pH 3.15 with acetic acid and filter with a membrane filter (aperture diameter: no more than 0.5- μ m) made of hydrophilic PTFE. |
| Flow rate | 1.0 mL/min |
| Detector system | UV detector at a wavelength of 262 nm |

1) Usual laboratory apparatus

4) 共同試験用試料の均質性確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁷⁾の均質性試験に従い、各系列の共同試験用試料からそれぞれ 10 試料を抜き取り、各試料につき 2 点併行で 3) に従って分析した。

5) 共同試験

試験に参加した 10 試験室と使用した高速液体クロマトグラフ及びカラムは以下のとおりであり、それぞれの試験室において送付した 10 試料について 3) に従って試験を実施した。

- ・ アジレント・テクノロジー株式会社
(Agilent 1260 Infinity Series, Agilent HC-C18(2) (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μ m))
- ・ ジーエルサイエンス株式会社
(GL-7400 Series, InertSustain C18 (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μ m))
- ・ 株式会社島津総合分析試験センター 京都事業所
(島津高速液体クロマトグラフ Prominense システム, Shim-pack VP-ODS (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 3 μ m))
- ・ 財団法人日本食品分析センター 彩都研究所 分析化学課
(島津製作所 LC-10A Series, Mightysil RP-18 (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μ m))
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

- (Waters 2695 Series, Mightysil RP-18GP (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μ m))
- ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター
(島津製作所 LC-10A Series, Mightysil RP-18 (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μ m))
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター
(日本分光 LC-2000Plus Series, Mightysil RP-18 (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μ m))
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター
(Waters 1500 Series, Mightysil RP-18GP (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μ m))
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター
(Agilent 1100 Series, Mightysil RP-18 (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μ m))
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部
(島津製作所 LC-10A Series, Mightysil RP-18 (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μ m))
- (50 音順)

3. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰返し 2 回 \times 10 試料の一元配置分散分析から得られた統計量を Table 2 に示した。いずれの試料においても, F 値が F (9, 10; 0.05) を下回ったことから, 有意水準 5 % において試料間に有意な差は認められず⁷⁾, すべての分析試料が共同試験に用いることができる均質性を有していることを確認した。

Table 2 Homogeneity test results

| Sample | Mean ¹⁾ (%) ²⁾ | s_{an} ³⁾ (%) ²⁾ | s_{sam} ⁴⁾ (%) ²⁾ | s_R ⁵⁾ (%) ²⁾ | F value ⁶⁾ | F critical value ⁷⁾ |
|-----------------------|---|---|--|--|-----------------------|-----------------------------------|
| Compound fertilizer 1 | 0.090 | 0.004 | 0.003 | 0.005 | 2.30 | 3.02 |
| Compound fertilizer 2 | 0.242 | 0.022 | 0 | 0.022 | 0.94 | 3.02 |
| Compound fertilizer 3 | 0.486 | 0.020 | 0.017 | 0.026 | 2.35 | 3.02 |
| Compound fertilizer 4 | 0.729 | 0.040 | 0.012 | 0.042 | 1.18 | 3.02 |
| Compound fertilizer 5 | 1.03 | 0.08 | 0 | 0.08 | 0.92 | 3.02 |

1) Grand mean of the result obtained by analyzing ten sample containers in duplicate

2) Mass fraction

3) Analytical standard deviation

4) Sampling standard deviation

5) Reproducibility standard deviation of sample-to-sample

6) F value calculated based on analysis of variance (ANOVA)

7) F (9, 10; 0.05)

2) 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告された共同試験成績を Table 3 に示した。各系列の分析試料の試験結果を IUPAC の共同試験プロトコル⁶⁾に従って統計処理した。試験成績の外れ値を検出するために Cochran の検定及び Grubbs の検定を実施したところ, 10 試験室の試験成績, 全てにおいて外れ値は認められなかった。

Table 3 Individual result of 1-amidino-2-thiourea in fertilizer (mass %)

| Lab ID | Compound fertilizer 1 | | Compound fertilizer 2 | | Compound fertilizer 3 | |
|--------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|
| A | 0.078 | 0.089 | 0.225 | 0.241 | 0.506 | 0.523 |
| B | 0.102 | 0.106 | 0.263 | 0.242 | 0.533 | 0.524 |
| C | 0.085 | 0.088 | 0.226 | 0.253 | 0.529 | 0.548 |
| D | 0.093 | 0.108 | 0.239 | 0.248 | 0.490 | 0.492 |
| E | 0.087 | 0.094 | 0.242 | 0.234 | 0.516 | 0.460 |
| F | 0.090 | 0.109 | 0.236 | 0.223 | 0.495 | 0.534 |
| G | 0.089 | 0.101 | 0.283 | 0.271 | 0.529 | 0.537 |
| H | 0.101 | 0.104 | 0.224 | 0.266 | 0.477 | 0.503 |
| I | 0.091 | 0.092 | 0.243 | 0.238 | 0.469 | 0.494 |
| J | 0.068 | 0.090 | 0.228 | 0.301 | 0.531 | 0.524 |

* It was not a result of the identified outliers with Cochran's test and Grubbs' tests.

Table 3 (continued)

| Lab ID | Compound fertilizer 4 | | Compound fertilizer 5 | |
|--------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|
| A | 0.737 | 0.819 | 1.12 | 1.06 |
| B | 0.827 | 0.727 | 1.08 | 0.994 |
| C | 0.774 | 0.758 | 1.05 | 0.996 |
| D | 0.775 | 0.773 | 1.03 | 1.07 |
| E | 0.730 | 0.709 | 0.994 | 0.974 |
| F | 0.739 | 0.807 | 1.03 | 0.948 |
| G | 0.812 | 0.807 | 1.05 | 1.02 |
| H | 0.699 | 0.742 | 1.02 | 0.955 |
| I | 0.748 | 0.707 | 1.04 | 0.996 |
| J | 0.714 | 0.780 | 1.00 | 0.974 |

3) 併行精度及び室間再現精度

試験成績より算出した平均値, 併行標準偏差(s_r)及び併行相対標準偏差(RSD_r)値, 並びに室間再現標準偏差(s_R), 室間再現相対標準偏差(RSD_R)及び室間再現 HorRat 値を Table 4 に示した. 室間再現 HorRat 値は分析方法の精度の評価をするために用いられており, 現在のところ肥料に使用している事例がないが参考に記載した. HorRat 値は $RSD_R/PRSD_R$ により求められる. なお, $PRSD_R$ は平均定量値から Horwitz 修正式⁸⁾により求めた. 試験成績の平均値は質量分率 0.093 %~1.02 %であり, その s_r 及び s_R は質量分率 0.009 %~0.039 %及び 0.010 %~0.044 %であり, RSD_r 及び RSD_R は 3.8 %~9.1 %及び 4.3 %~11.2 %であった. また, HorRat 値は 1.09~1.95 であった⁹⁾.

Table 4 Statistical analysis of collaborative study results for 1-amidino-2-thiourea

| Sample | No. of labs $m(n)^{1)}$ | Maen ²⁾ (%) ³⁾ | s_r ⁴⁾ (%) ³⁾ | RSD _r ⁵⁾ (%) | s_R ⁶⁾ (%) ³⁾ | RSD _R ⁷⁾ (%) | HorRat ⁸⁾ |
|-----------------------|----------------------------|---|--|---------------------------------------|--|---------------------------------------|----------------------|
| Compound fertilizer 1 | 10 (0) | 0.093 | 0.009 | 9.1 | 0.010 | 11.2 | 1.95 |
| Compound fertilizer 2 | 10 (0) | 0.246 | 0.021 | 8.6 | 0.021 | 8.6 | 1.72 |
| Compound fertilizer 3 | 10 (0) | 0.511 | 0.018 | 3.6 | 0.025 | 4.9 | 1.11 |
| Compound fertilizer 4 | 10 (0) | 0.759 | 0.039 | 5.1 | 0.040 | 5.3 | 1.27 |
| Compound fertilizer 5 | 10 (0) | 1.02 | 0.039 | 3.8 | 0.044 | 4.3 | 1.09 |

- 1) Number of laboratories, where m =number of laboratories retained after outlier removed and (n) =number of outliers.
- 2) Grand mean value of the results of duplicate sample which were reported from laboratories retained after outlier removed
- 3) Mass fraction
- 4) Standard deviation of repeatability
- 5) Relative standard deviation of repeatability
- 6) Standard deviation of reproducibility
- 7) Relative standard deviation of reproducibility
- 8) Horwitz ratio of reproducibility

4. まとめ

10 試験室において 5 種類 (10 点) の 1-アミジノ-2-チオ尿素入り化成肥料を用いて共同試験を実施し、高速液体クロマトグラフによる 1-アミジノ-2-チオ尿素の試験法の評価を行った。その結果、室間再現精度 (相対標準偏差) は 4.3 % ~ 11.2 % であった。このことから、試験室間の比較による本試験法の室間再現精度は満足する成績であり、本試験法は、肥料中の 1-アミジノ-2-チオ尿素測定に用いることが出来る十分な性能を有していることが確認できた。

謝 辞

共同試験にご協力頂いたアジレント・テクノロジー株式会社、ジエールサイエンス株式会社、株式会社島津総合分析試験センター及び財団法人日本食品分析センターの各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法 (1992 年版), 財団法人日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 2) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 3) 千葉一則: 高速液体クロマトグラフィーによる肥料中の硝酸化成抑制材 1-アミジノ-2-チオウレア (ASU) の分析法について, 肥検回報, **43** (4), 15~22 (1990)
- 4) 白澤優子: 高速液体クロマトグラフ法による肥料中の硝酸化成抑制材試験法の妥当性確認 — 検量線の評価 —, 肥料研究報告, **4**, 123~129 (2010)
- 5) ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (1999)

- 6) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 7) Thompson, M., R.Ellison, S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 8) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
- 9) Codex Alimentarius: CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL Twentieth edition, p.66 (2011)

Determination of 1-Amidino-2-thiourea as a Nitrification Inhibitor in Compound Fertilizer by High Performance Liquid Chromatography: A Collaborative Study

Sigehiro KAI¹ and Erina WATANABE¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

A collaborative study was conducted to evaluate high performance liquid chromatography (HPLC) for determination of 1-amidino-2-thiourea in compound fertilizers. The test portion of sample was extracted with water. The extract was diluted and centrifuged. The 1-amidino-2-thiourea was separated by reversed-phase HPLC using buffer solution - methanol (4:1) containing sodium 1-hexanesulfonate, and detected with UV detector at 262 nm. Ten collaborators were sent 5 sample materials in a blind duplicate design. After identification of outliers with Cochran's test and Grubbs' test, mean values reported from 0.093 to 1.02 % for each kind of samples. The relative standard deviation (RSD_r) for repeatability ranged from 3.6 to 9.1 %. The relative standard deviation (RSD_R) for reproducibility ranged from 4.3 to 11.2 %. These results indicated that this method has an acceptable precision for determination of 1-amidino-2-thiourea in Chemical fertilizer.

Key words 1-amidino-2-thiourea, high performance liquid chromatography, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, 6, 36~42, 2013)

6 カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響(続報)

廣井利明¹, 恵智正宏¹, 山西正将², 阿部文浩¹

キーワード 汚泥肥料, 連用試験, カドミウム

1. はじめに

肥料の公定規格¹⁾では, 汚泥肥料中の含有を許されるカドミウムの最大量は 0.0005 %と定められており, 汚泥肥料はこの範囲内において流通, 施用されている. 一方, 汚泥肥料の施用により土壌に負荷された重金属が蓄積し, 更に長期にわたり施用すると土壌の保持力を超えて, カドミウムが農作物へ移行し, 人畜に有害な農作物が生産されることが懸念されている. このことから, 肥料の有効性及び安全の確保に必要な課題に関する調査研究として, 汚泥肥料の連用施用試験を実施している.

2009 年夏から 2011 年夏にかけて, 汚泥肥料施用区及び標準区の 2 試験区に栽培前に施肥し, ニンジン, ホウレンソウ, ホウレンソウ, チンゲンサイ, カブの順で栽培し, 土壌中のカドミウム濃度の変化及び作物体へのカドミウム吸収量を確認した. その結果は既に肥料研究報告第 4 号²⁾及び 5 号³⁾で報告した. 2011 年冬及び 2012 年夏においてはそれぞれホウレンソウ, ニンジンを用いて試験を実施したのでその結果を報告する.

2. 材料及び方法

1) 2011 年冬作の連用試験(2011 年 10 月 7 日~2012 年 1 月 17 日)

(1) 試験圃場及び供試土壌

本試験は当センター岩槻圃場(埼玉県さいたま市)で実施した. 試験は, 汚泥肥料の施用履歴がある土壌(汚泥肥料施用区)と施用履歴がない土壌(標準区)を供試土壌とし, 2 試験区 2 反復とした. 施肥の前歴として, 汚泥肥料施用区は平成 16 年及び 18 年に汚泥肥料(し尿汚泥肥料及び下水汚泥肥料)を施用しており, この時の汚泥肥料由来のカドミウム負荷量は, 試験区(4 m²)当たり約 100 mg であった. 土壌の種類, 土性, 及び前作跡地の pH, EC, 0.1 mol/L 塩酸可溶カドミウム(以下, 0.1 mol/L HCl-Cd)を Table 1 に示した.

(2) 供試肥料等

施用する汚泥肥料は高分子凝集剤を用いて脱水したし尿汚泥を乾燥し, 生産された市販のし尿汚泥肥料を使用した. 補正肥料として特級試薬の硫酸アンモニウム, リン酸一アンモニウム及び塩化カリウムを使用した. 汚泥肥料及び補正肥料の各成分の分析は肥料等試験法⁴⁾によった. なお, 汚泥肥料中の 0.1 mol/L HCl-Cd は, 汚泥肥料 1 g を 0.1 mol/L 塩酸 50 mL で 1 時間振とうして抽出したカドミウムを原子吸光光度法により測定した. 汚泥肥料の分析結果は Table 2 に, 補正肥料の成分量は Table 3 に示した.

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部 (現)神戸センター

Table 1 Characteristics of soil used in this study

| | Unit | Year | AP ¹⁾ -1 | AP ¹⁾ -2 | SP ²⁾ -1 | SP ²⁾ -2 |
|---------------------------------------|-------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| pH (H ₂ O) ³⁾ | | 2009 ⁴⁾ | 6.1 | 6.1 | 6.2 | 6.2 |
| | | 2011 ⁵⁾ | 6.2 | 6.4 | 6.4 | 6.3 |
| EC ⁶⁾ | mS/m | 2009 | 10.0 | 10.3 | 14.0 | 11.6 |
| | | 2011 | 12.9 | 12.4 | 14.3 | 13.8 |
| Acid-solubility-cadmium ⁷⁾ | mg/kg | 2009 | 0.18 | 0.19 | 0.18 | 0.21 |
| | | 2011 | 0.18 | 0.18 | 0.16 | 0.19 |
| Kind of soil | | | Andosol | | Andosol | |
| Soil texture | | | Light clay | | Light clay | |

1) Sludge-fertilizer-application plot

2) Standard plot

3) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode

4) The year when the study was designed to evaluate the effects of sludge fertilizer applications on soil intended for long-term use

5) The year when this study was conducted

6) Soil electrical conductivity determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with an electrical conductivity meter.

7) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid in the drying soil

Table 2 Properties of sludge fertilizer

| Properties | Unit | Content | Property | Unit | Content |
|--------------------------------|------|---------|---------------------------------------|--------|---------|
| Total nitrogen | % | 3.31 | Total copper | mg /kg | 546 |
| Total phosphorus ¹⁾ | % | 5.22 | Total zinc | mg /kg | 1,760 |
| Total potassium ²⁾ | % | 0.36 | Total cadmium | mg /kg | 3.64 |
| Total calcium ³⁾ | % | 2.14 | Acid-solubility-cadmium ⁴⁾ | mg /kg | 3.24 |
| Moisture | % | 26.09 | | | |

1) Content as P₂O₅2) Content as K₂O

3) Content as CaO

4) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid

Table 3 Properties of the reagent

| Property | Unit | Urea | Potassium hydrophosphate | Potassium chloride |
|--------------------------------|------|------|--------------------------|--------------------|
| Total nitrogen | % | 46.1 | | - |
| Total phosphorus ¹⁾ | % | - | 52.0 | - |
| Total potassium ²⁾ | % | - | 34.5 | 63.1 |

1) Content as P₂O₅2) Content as K₂O

(3) 試験区の構成

汚泥肥料施用区及び標準区は、1 試験区の面積を 4 m²(縦 2 m×横 2 m)とし、各試験区 2 反復の計 4 試験区を Fig. 1 のとおり配置した。施肥量は埼玉県の高レンソウ施肥基準⁵⁾から設計した。汚泥肥料施用区は、窒

素全量を基準に汚泥肥料を投入し, 前作において生育差が認められたことから, 汚泥肥料により窒素が 3 割増しとなるよう設計した. リン酸及び加里は不足分を補正肥料により調整し, 一試験区当たり窒素 104 g, リン酸 104 g, 加里 72 g とした. 標準区については, 窒素は尿素により 80 g とし, 窒素及びりん酸は補正肥料を用いて汚泥肥料施用区と同様の成分量になるよう調整した (Table 4 参照).

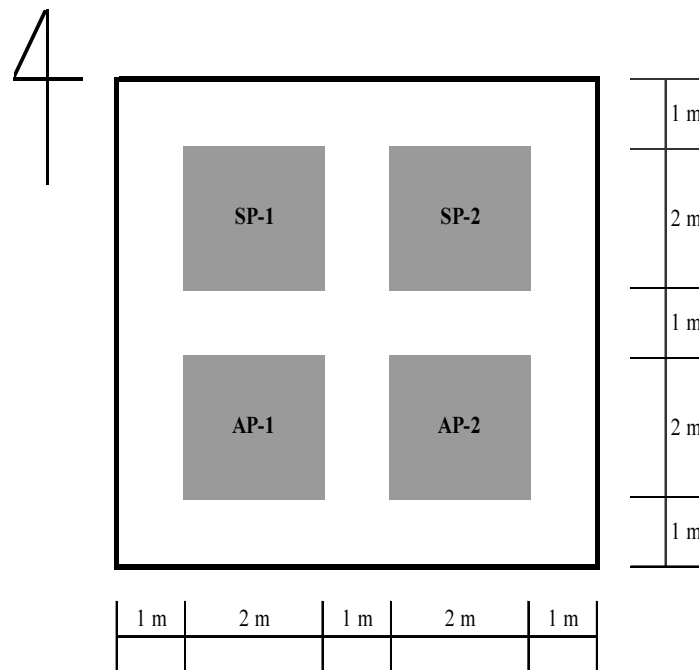


Fig.1 Plot plan of the test field

AP: Sludge-fertilizer-application plot

SP: Standard plot

Table 4 The design of the test plots

| | Amount of application (g) | The applied components | | | |
|---|------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------|
| | | N (g) | P ¹⁾ (g) | K ²⁾ (g) | Cd (mg) |
| <Sludge-fertilizer-application plot (AP)> | | | | | |
| Sluge fertilizer | 1934 | 64.0 | 101.0 | 7.0 | 7.04 |
| Ammonium sulfate | 87 | 40.0 | - | - | - |
| Ammonium dihydrogenphosphate | 6 | - | 3.0 | 2.0 | - |
| Potassium chloride | 100 | - | - | 63.0 | - |
| Total | | 104.0 | 104.0 | 72.0 | 7.04 |
| <Standard plot (SP)> | | | | | |
| Sluge fertilizer | - | - | - | - | - |
| Ammonium sulfate | 174 | 80.0 | - | - | - |
| Ammonium dihydrogenphosphate | 200 | - | 104.0 | 69.0 | - |
| Potassium chloride | 5 | - | - | 3.0 | - |
| Total | | 80.0 | 104.0 | 72.0 | 0.00 |

1) Content as P₂O₅2) Content as K₂O

(4) 栽培方法

供試作物はホウレンソウ(品種名:サンライト)とし、埼玉県の施肥基準に基いて栽培を実施した。各試験区の周辺部にはガードプランツとして供試作物を栽培した。施肥は2011年10月7日に、各試験区の表層土約10kgを袋に採取し、あらかじめ計量した肥料を入れて混合し、各試験区表層に均等に散布したのちに、耕耘機で深さ約15cmまで耕耘した。試験区内は9条(条間約20cm)とし、播種は10月11日にシーダーテープ種子により行った。間引きは10月21日及び10月26日に行い、農薬散布はヨトウムシ等の害虫防除のため播種時にアセフェート・クロチアニジン粒剤、10月19日に2-イソプロピル-4-メチルピリミジル-6-ージエチルチオホスフェート粒剤を散布した。雑草防除は手除草により適宜実施した。収穫は2012年1月17日に行い、地際をハサミで切断して地上部のみを収穫した。

(5) 作物体のカドミウム分析

収穫したホウレンソウは直ちに試験区毎に全株重量を測定した。分析用試料は試験区中央の3畝分とし、ガラス室で自然乾燥した後に乾燥機にて65℃で1昼夜乾燥した。重量を測定した後、目開き1mmのふるいを通過するまで粉砕機(SM2000:Retsch)で粉砕し分析用試料とした。カドミウム含有量は、分析試料0.5gに硝酸5mL及び過酸化水素2mLを加えマイクロ波分解装置(Multiwave 3000:Perkin Elmar)⁶⁾で分解したものを全量フラスコに移し込み、定容し試料溶液とした。測定はICP質量分析法(ICPM-8500:島津製作所)により行った。

(6) 跡地土壌の分析

収穫後の土壌は、対角線採土法⁷⁾により各試験区の作物体試料をサンプリングした試験区中央1m²の四隅及び中央の計5か所から、採土器(内径50mm×長さ250mm)を用いて表層から約15cmまで採取し、風乾後2mmのふるいを通過したものを分析用試料とした。風乾した土壌について、水分はハロゲン水分計(HG53:メ

ラー・トレド)により測定し, 土壌 pH 及び EC は風乾土壌 1 に対して純水 5 を加え 30 分間振とう後ろ過し, pH はガラス電極法 (F-23: HORIBA) により, EC は電気伝導率計 (F-54: HORIBA) により測定した. 土壌中の 0.1 mol/L HCl-Cd は 0.1 mol/L 塩酸で約 30 °C に保ち 1 時間振とうして抽出したカドミウム⁸⁾を ICP 質量分析法により測定した.

2) 2012 年夏作の連用試験 (2012 年 6 月 15 日~2012 年 10 月 9 日)

(1) 試験圃場及び供試土壌

試験圃場及び供試土壌として 2.1) の試験の汚泥肥料施用区及び標準区の跡地を引き続き使用した.

土壌の種類, 土性, 及び前作跡地の pH, EC, 全窒素(燃焼法), 全炭素(燃焼法), リン酸吸収係数(バナドモリブデン酸法)⁷⁾, 有効態リン酸(トルオーグ法)⁷⁾, 陽イオン交換容量(セミマイクロ Schollenberger 法)⁷⁾, 0.1 mol/L HCl-Cd を Table 5 に示した.

(2) 供試肥料等

供試肥料は 2.1) (2) と同様のものを用いた. 補正肥料として特級試葉の硫酸アンモニウム, リン酸一アンモニウム及び塩化カリウムを使用した. 補正肥料の各成分の分析は肥料等試験法⁴⁾によった. 補正肥料の成分量は Table 6 に示した.

Table 5 Characteristics of soil used in this study

| | Unit | year | AP ¹⁾ -1 | AP ¹⁾ -2 | SP ²⁾ -1 | SP ²⁾ -2 |
|--|------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| pH (H ₂ O) ³⁾ | | 2009 ⁷⁾ | 6.1 | 6.1 | 6.2 | 6.2 |
| | | 2012 ⁸⁾ | 6.3 | 6.2 | 6.3 | 6.3 |
| EC ⁴⁾ | mS/m | 2009 | 10.0 | 10.3 | 14.0 | 11.6 |
| | | 2012 | 14.5 | 16.1 | 15.5 | 15.0 |
| Total nitrogen ⁵⁾ | % ⁶⁾ | 2012 | 0.39 | 0.40 | 0.37 | 0.39 |
| Total carbon ⁵⁾ | % ⁶⁾ | 2012 | 5.5 | 5.7 | 5.6 | 5.6 |
| Phosphate absorption coefficient ⁵⁾ | mg/100g dry soil | 2012 | 2370 | 2380 | 2360 | 2420 |
| Available phosphate ⁵⁾ | mg/100g dry soil | 2009 | 5.8 | 6.1 | 7.7 | 6.9 |
| | | 2012 | 4.8 | 4.5 | 6.1 | 5.9 |
| CEC ⁵⁾ | c molc/kg | 2012 | 37.8 | 38.8 | 37.7 | 38.4 |
| 0.1 mol/L HCl-Cd ⁵⁾ | mg/kg | 2009 | 0.18 | 0.19 | 0.18 | 0.21 |
| | | 2012 | 0.19 | 0.20 | 0.16 | 0.18 |
| Kind of soil | | | Andosol | | Andosol | |
| Soil texture | | | Light clay | | Light clay | |

1) Sludge-fertilizer-application plot

2) Standard plot

3) pH 1 : 5 (soil : water), n = 1

4) Soil electrical conductivity determined on 1:5 (soil:water) suspensions with an electrical conductivity meter, n = 1

5) Content in the dry matter, average (n = 2)

6) Mass fraction

7) The year when the study was designed to evaluate the effects of sludge fertilizer applications on soil intended for long-term use

8) The year when this study was conducted.

Table 6 Properties of the reagent

| Property | Unit | Ammonium sulfate | Ammonium dihydrogenphosphate | Potassium chloride |
|--------------------------------|-----------------|------------------|------------------------------|--------------------|
| Total nitrogen | % ¹⁾ | 21.1 | 12.0 | - |
| Total phosphorus ²⁾ | % ¹⁾ | - | 61.5 | - |
| Total potassium ³⁾ | % ¹⁾ | - | - | 63.1 |

1) Mass fraction

2) Content as P₂O₅3) Content as K₂O

(3) 試験区の構成

試験区の構成は 2.1) (3)と同様に配置した。施肥量は埼玉県のニンジン施肥基準⁵⁾を基に決定し、1 試験区当たり窒素全量 88 g, リン酸全量 104 g, 加里全量 80 gとした。汚泥肥料の施用量は、多くの自治体で推奨している1作当たりの施肥限度量である500 kg/10 a(現物), 窒素肥効率を50%として決定し、不足分を補正肥料で施用した。リン酸及び加里についても不足分は補正肥料を用いて調整した。標準区については、補正肥料を用いて汚泥肥料施用区と同様の成分量になるよう調整し施用した(Table 7 参照)。

また、2011年冬作の跡地土壌を分析したところ、各試験区の有効態りん酸は4.5~6.1 mg/100 g 乾土であり、地力増進基本指針⁹⁾における有効態りん酸の改善目標(10 mg/100g 乾土)に比べて低い値であった。このため、溶成りん肥(く溶性りん酸20%含有)を1試験区当たり200 g 施用した。

Table 7 The design of the test plots

| | Amount of application (g) | The applied components | | | |
|---|------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------|
| | | N (g) | P ¹⁾ (g) | K ²⁾ (g) | Cd (mg) |
| <Sludge-fertilizer-application plot (AP)> | | | | | |
| Sludge fertilizer | 2000 | 66.0 | 104.0 | 7.0 | 7.28 |
| Ammonium sulfate | 260 | 55.0 | - | - | - |
| Ammonium dihydrogenphosphate | - | - | - | - | - |
| Potassium chloride | 115 | - | - | 73.0 | - |
| Fused magnesium phosphate | 200 | - | 40.0 | - | - |
| Total | | 121.0 | 144.0 | 80.0 | 7.28 |
| <Standard plot (SP)> | | | | | |
| Sludge fertilizer | - | - | - | - | - |
| Ammonium sulfate | 321 | 68.0 | - | - | - |
| Ammonium dihydrogenphosphate | 170 | 20.0 | 104.0 | - | - |
| Potassium chloride | 127 | - | - | 80.0 | - |
| Fused magnesium phosphate | 200 | - | 40.0 | - | - |
| Total | | 88.0 | 144.0 | 80.0 | 0.00 |

1) Content as P₂O₅2) Content as K₂O

(4) 栽培方法

供試作物はニンジン(品種名:ベーターリッチ)とした。各試験区の周辺部にはガードプランツとして供試作物を栽培した。施肥は播種 12 日前の 2012 年 6 月 15 日に行った。各試験区の表層土約 12 kg を袋に取り、肥料を入れ混合し、各試験区表層に均等に散布した。耕耘機で深さ約 15 cm まで耕耘した。試験区内は 9 条(条間約 20 cm)とし、播種は 6 月 27 日にシーダーテープ種子を用いて行った。間引きは 7 月 19 日及び 8 月 1 日に行い、収穫時の株間が約 5 cm となるようにした。収穫は 10 月 9 日に行った。農薬散布はヨトウムシ、キアゲハ幼虫等の害虫防除のため、施肥時及び 7 月 25 日に 2-イソプロピル-4-メチルピリミジル-6-ジエチルチオホスフェート粒剤、7 月 11 日にアセフェート・クロチアニジン粒剤を散布した。雑草防除は手除草により適宜実施した。栽培期間中は例年に比べて高温少雨であったため、水道水によるかん水を適宜行った。収穫は 2012 年 10 月 9 日に行い、葉部と根部を収穫した。

(5) 作物体のカドミウム分析

収穫したニンジンは直ちに試験区毎に全株重量を測定した。分析用試料として試験区中央の 1 m² 分全てを根部と葉部に切り分け、水道水洗浄後に部位別に重量を測定した。葉部は葉が重ならないように広げ、根部は薄く切り分けて自然乾燥した。その後、通風乾燥機により 65 °C で 24 時間乾燥を行い乾物重を測定した後、目開き 500 µm のふるいを通過するまで粉砕機(ZM 100: Retsch)で粉砕した。

カドミウム含有量は、分析試料 0.5 g に硝酸 5 mL 及び過酸化水素 2 mL を加えマイクロ波分解装置(Multiwave 3000: Perkin Elmar)⁶⁾で分解したものを全量フラスコに移し込み、定容し試料溶液とした。測定は ICP 質量分析法(ICPM-8500: 島津製作所)により行った。

(6) 跡地土壌の分析

収穫後の土壌は、対角線採土法⁷⁾により各試験区の作物体試料をサンプリングした試験区中央 1 m² の四隅及び中央の計 5 か所から、採土器(内径 50 mm × 長さ 250 mm)を用いて表層から約 15 cm まで採取し、風乾後 2 mm のふるいを通過したものを分析用試料とした。風乾した土壌について、水分はハロゲン水分計(HG53: メトラー・トレド)により測定し、土壌 pH 及び EC は風乾土壌 1 に対して純水 5 を加え 30 分間振とう後ろ過し、pH はガラス電極法(F-23: HORIBA)により、EC は電気伝導率計(F-54: HORIBA)により測定した。土壌中の 0.1 mol/L HCl-Cd は 0.1 mol/L 塩酸で約 30 °C に保ち 1 時間振とうして抽出したカドミウム⁸⁾を ICP 質量分析法により測定した。

3. 結 果

1) 2011 年連用試験(冬: 2011 年 10 月 7 日～2012 年 1 月 17 日)

(1) 作物体

播種から収穫までの栽培期間は約 3 ヶ月であり、その間の生育に異常な症状等は観察されなかった。

ホウレンソウの収量、カドミウム濃度及び吸収量を Table 8 に示した。汚泥肥料施用区及び標準区の収量は、生体重平均値でそれぞれ 8.13 kg と 10.33 kg であり、汚泥肥料施用区は標準区と比較して 2 kg 程度低かった。カドミウム濃度については、汚泥肥料施用区は平均値で 0.53 mg/kg、標準区は 0.36 mg/kg であり、汚泥肥料施用区が有意に高かった。カドミウム吸収量については、汚泥肥料施用区が平均値で 0.68 mg に対して、標準区は 0.58 mg であり、汚泥肥料施用区の吸収量が有意に高かった。

Table 8 Cadmium uptake and yield of spinach in the test

| | Part | Unit | Test plot-1 | | Test plot-2 | | Average | t-test |
|---|----------------|---------|-------------|------|-------------|------|---------|----------------------------|
| <Sludge-fertilizer-application plot (AP)> | | | | | | | | |
| Fresh weight | edible portion | kg | 8.15 | | 8.10 | | 8.13 | significance ³⁾ |
| Dry weight | edible portion | kg | 1.30 | | 1.26 | | 1.28 | significance |
| Cadmium concentration ¹⁾ | edible portion | mg/kg | 0.54 | 0.55 | 0.54 | 0.52 | 0.53 | significance |
| Quantity of cadmium uptake ²⁾ | edible portion | mg/plot | 0.70 | 0.71 | 0.68 | 0.66 | 0.68 | significance |
| <Standard plot (SP)> | | | | | | | | |
| Fresh weight | edible portion | kg | 10.70 | | 9.95 | | 10.33 | |
| Dry weight | edible portion | kg | 1.67 | | 1.59 | | 1.63 | |
| Cadmium concentration ¹⁾ | edible portion | mg/kg | 0.35 | 0.39 | 0.34 | 0.35 | 0.36 | |
| Quantity of cadmium uptake ²⁾ | edible portion | mg/plot | 0.58 | 0.65 | 0.54 | 0.56 | 0.58 | |

1) Content in the drying soil

2) Quantity of cadmium uptake = Harvest (dry weight) × Cadmium concentration (dry matter)

3) It is no significantly different for standard plot (t-test, 5 % of both sides levels of significance, the harvest is $n = 2$, cadmium concentration and quantity of cadmium uptake are $n = 4$ (2 repetition × number of samples(2)))

(2) 跡地土壌

跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd, pH 及び EC を Table 9 に示した. 0.1 mol/L HCl-Cd は, 汚泥肥料施用区は 0.19 mg/kg 及び 0.20 mg/kg, 標準区は 0.16 mg/kg 及び 0.18 mg/kg で, 汚泥肥料施用区が有意に高い濃度であった.

Table 9 Characteristics of soil used in this study

| | Unit | Test plot-1 | | Test plot-2 | | Average | t-test |
|---|-------|-------------|------|-------------|------|---------|----------------------------|
| < Sludge-fertilizer-application plot (AP) > | | | | | | | |
| 0.1 mol /L HCl-Cd ¹⁾ | mg/kg | 0.19 | 0.20 | 0.20 | 0.21 | 0.20 | significance ⁴⁾ |
| pH (H ₂ O) ²⁾ | | 6.3 | | 6.2 | | | |
| EC ³⁾ | mS/m | 14.5 | | 16.1 | | | |
| < Standard plot (SP) > | | | | | | | |
| 0.1 mol /L HCl-Cd ¹⁾ | mg/kg | 0.16 | 0.16 | 0.18 | 0.18 | 0.17 | |
| pH (H ₂ O) ²⁾ | | 6.3 | | 6.3 | | | |
| EC ³⁾ | mS/m | 15.5 | | 15.0 | | | |

1) Content of cadmium dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid in the drying soil

2) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode

3) Soil electrical conductivity determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with an electrical conductivity meter.

4) It is no significantly different for standard plot (t-test, 5 % of both sides levels of significance, the harvest is $n = 2$, cadmium concentration and quantity of cadmium uptake are $n = 4$ (2 repetition × number of samples(2)))

2) 2012 年連用試験(夏:2012 年 6 月 15 日~2012 年 10 月 9 日)

(1) 作物体

播種から収穫までの栽培期間は約 4 ヶ月であり、その間は、例年に比べて高温少雨傾向で特に発芽後に枯死する個体が多く認められた。また、収穫直前には、一部の葉にうどん粉病と思われる症状が認められたが、それ以外は異常な症状等は観察されなかった。

ニンジンの収量、カドミウム濃度及び吸収量を Table 10 に示した。全ての項目で処理間における有意差は認められなかった。汚泥肥料施用区及び標準区の収量は、生体重平均値で根部がそれぞれ 12.25 kg と 12.13 kg、葉部がそれぞれ 10.00 kg と 9.70 kg であった。汚泥肥料施用区及び標準区のカドミウム濃度については、根部がそれぞれ 0.24 mg/kg と 0.23 mg/kg、葉部がそれぞれ 0.31 mg/kg と 0.29 mg/kg であった。汚泥肥料施用区及び標準区の試験区当たりのカドミウム吸収量については、平均値で根部がそれぞれ 0.32 mg と 0.30 mg、葉部がそれぞれ 0.41 mg と 0.38 mg であった。作物体全体の試験区当たりのカドミウム吸収量の平均値は汚泥肥料施用区で 0.73 mg、標準区で 0.68 mg であった。

Table 10 Cadmium uptake and yield of carrot in the test

| | Part | Unit | Test plot-1 | | Test plot-2 | | average | t-test |
|---|-------|---------|-------------|------|-------------|------|---------|--------------------|
| < Sludge-fertilizer-application plot (AP) > | | | | | | | | |
| Fresh weight | Root | kg | 11.90 | | 12.60 | | 12.25 | n.s. ³⁾ |
| | Leaf | kg | 10.40 | | 9.60 | | 10.00 | n.s. |
| | Total | kg | 22.30 | | 22.20 | | 22.25 | n.s. |
| Dry weight | Root | kg | 1.27 | | 1.33 | | 1.30 | n.s. |
| | Leaf | kg | 1.35 | | 1.30 | | 1.33 | n.s. |
| | Total | kg | 2.62 | | 2.63 | | 2.63 | n.s. |
| Cadmium concentration ¹⁾ | Root | mg/kg | 0.23 | 0.24 | 0.25 | 0.25 | 0.24 | n.s. |
| | Leaf | mg/kg | 0.30 | 0.31 | 0.31 | 0.32 | 0.31 | n.s. |
| Quantity of cadmium uptake ²⁾ | Root | mg/plot | 0.30 | 0.31 | 0.33 | 0.33 | 0.32 | n.s. |
| | Leaf | mg/plot | 0.41 | 0.42 | 0.41 | 0.42 | 0.41 | n.s. |
| | Total | mg/plot | 0.70 | 0.72 | 0.73 | 0.74 | 0.73 | n.s. |
| < Standard plot (SP) > | | | | | | | | |
| Fresh weight | Root | kg | 11.95 | | 12.30 | | 12.13 | |
| | Leaf | kg | 10.25 | | 9.15 | | 9.70 | |
| | Total | kg | 22.20 | | 21.45 | | 21.83 | |
| Dry weight | Root | kg | 1.29 | | 1.30 | | 1.29 | |
| | Leaf | kg | 1.39 | | 1.26 | | 1.33 | |
| | Total | kg | 2.69 | | 2.56 | | 2.62 | |
| Cadmium concentration ²⁾ | Root | mg/kg | 0.23 | 0.24 | 0.21 | 0.22 | 0.23 | |
| | Leaf | mg/kg | 0.30 | 0.31 | 0.27 | 0.27 | 0.29 | |
| Quantity of cadmium uptake ²⁾ | Root | mg/plot | 0.30 | 0.31 | 0.28 | 0.29 | 0.30 | |
| | Leaf | mg/plot | 0.42 | 0.43 | 0.34 | 0.35 | 0.38 | |
| | Total | mg/plot | 0.72 | 0.74 | 0.62 | 0.64 | 0.68 | |

1) Content in the drying soil

2) Quantity of cadmium uptake = Harvest (dry weight) × Cadmium concentration (dry matter)

3) It is no significantly different for standard plot (t-test, 5% of both sides levels of significance, the harvest is $n = 2$, cadmium concentration and quantity of cadmium uptake are $n = 4$ (2 repetition × 2 number of samples (2)))

(2) 跡地土壌

跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd, pH 及び EC を Table 11 に示した. 0.1 mol/L HCl-Cd は, 汚泥肥料施用区は 0.18 及び 0.19mg/kg, 標準区は 0.14 及び 0.16mg/kg で, 汚泥肥料施用区が有意に高い濃度であった.

Table 11 Characteristics of soil used in this study

| | Unit | Test plot-1 | | Test plot-2 | | average | t-test |
|---|-------|-------------|------|-------------|------|---------|----------------------------|
| < Sludge-fertilizer-application plot (AP) > | | | | | | | |
| 0.1 mol /L HCL-Cd ¹⁾ | mg/kg | 0.18 | 0.18 | 0.19 | 0.19 | 0.19 | significance ⁴⁾ |
| pH (H ₂ O) ²⁾ | | 6.2 | | 6.3 | | | |
| EC ³⁾ | mS/m | 16.6 | | 16.9 | | | |
| < Standard plot (SP) > | | | | | | | |
| 0.1 mol /L HCL-Cd ¹⁾ | mg/kg | 0.14 | 0.14 | 0.16 | 0.15 | 0.15 | |
| pH (H ₂ O) ²⁾ | | 6.2 | | 6.3 | | | |
| EC ³⁾ | mS/m | 15.6 | | 13.4 | | | |

1) Content in the drying soil

2) Soil pH determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with a glass electrode, $n = 1$

3) Soil electrical conductivity determined on 1 : 5 (soil : water) suspensions with an electrical conductivity meter, $n = 1$

4) It is significantly different for Standard plot (t-test, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4$ (2 repetition \times 2 number of samples (2)))

4. 考 察

1) 2011 年冬作ハウレンソウ及び 2012 夏作ニンジンの試験結果について

跡地土壌の 0.1 mol /L HCl-Cd は, 2011 年冬作及び 2012 年夏作において, 汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高い濃度を示した. これらの結果の要因として, 標準区では肥料由来のカドミウム負荷がないため, 連作により土壌中の 0.1 mol /L HCl-Cd が収奪され減少し, 一方, 汚泥肥料施用区においては, 汚泥肥料由来のカドミウム負荷と作物体収穫によるカドミウムの持出しがあるが, 現状のカドミウム負荷量では, 土壌の液相と固相との間で交換可能なカドミウム量¹⁰⁾は増大していないため, 土壌中の 0.1 mol /L HCl-Cd 濃度も一定で推移していることが考えられる.

作物体のカドミウム濃度及び吸収量は 2011 年冬作ハウレンソウでは, 汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高い濃度を示したが, その後に実施した 2012 年夏作ニンジンでは試験区間で有意差は認められなかった. ハウレンソウは土壌中の交換態のカドミウムを主体に吸収し, 無機結合態カドミウムなど他形態のカドミウムも吸収しうること, また, この吸収割合は品種や作物によって異なることが報告されている¹¹⁾. 汚泥肥料施用区と標準区では, ハウレンソウが吸収可能な形態のカドミウムとニンジンが吸収可能な形態のカドミウムの濃度が異なるため, ハウレンソウとニンジンで異なる結果となった可能性も考えられる.

この結果が一時的なものであるかは, 引き続き連用試験を実施中のため, その結果を確認する必要がある.

2) 2009 年試験開始時からの推移について

2009 年の試験開始時から, これまで 4 年間, 年 2 作の計 7 作(2012 年冬作は現在実施中)の試験を行った.

各測定結果の推移については下記のとおりであった。

(1) 作物体の収量

作物体の収量(生体重)の推移は Table 12 のとおりである。これまでの試験の収量は、参考にした自治体の施肥基準に記載されている目標収量と同等以上であり、一定の収量を確保できていると考えられる。標準区に対する汚泥肥料施用区の生体重指数を見ると、主に葉物作物において、汚泥肥料施用区の収量が 8 割程度となっていた。これは、汚泥肥料施用区の施肥設計において、汚泥肥料の連用による残効¹²⁾を考慮して、窒素肥効率を 100 %として計算していたが、連用 3 年目の 2011 年冬作ホウレンソウにおいても、汚泥肥料の残効は認められなかった。そこで、2012 年夏作以降は、汚泥肥料の窒素肥効率を夏作 50 %、冬作 30 %として施肥設計を計算している。その結果、2012 年夏作のニンジンでは、両試験区間で収量はほぼ同程度となった。しかし、根菜類については、2009 年夏作ニンジン及び 2011 年夏作カブについては、両試験区間でほぼ同程度の収量であったことから、収量の差の原因として汚泥肥料の窒素肥効率以外の要因が影響している可能性もある。引き続き連用試験を実施中のため、その結果も含めて今後の推移を確認し、施肥設計等を検討することとする。

Table 12 The yield of each crop body of 2009 to 2012 (fresh weight)

| Year | Season | Test crops | Part | AP ¹⁾ | | SP ²⁾ | | Aim yield ³⁾ (kg/plot) | Fresh weight index of AP ⁴⁾ |
|------|--------|---------------|----------------|---------------------------|---------------------|---------------------------|-------|--------------------------------------|---|
| | | | | Fresh weight (kg/plot) | (SD) | Fresh weight (kg/plot) | (SD) | | |
| 2009 | Summer | Carrot | Root | 18.0 | (0.1) ⁵⁾ | 17.9 | (1.0) | - | 101 |
| | | | Leaf | 10.5 | (0.4) | 9.6 | (0.9) | - | 109 |
| | | | Total | 28.5 | (0.4) | 27.6 | (1.8) | 16 | 104 |
| 2009 | winter | Spinach | Edible portion | 13.7 | (0.8) | 18.6 | (1.0) | 8 | 74 |
| 2010 | Summer | Spinach | Edible portion | 4.5 | (0.1) | 5.8 | (0.6) | 4 | 77 |
| 2010 | winter | Qing geng cai | Edible portion | 22.4 | (0.7) | 26.9 | (0.8) | 12 | 83 |
| 2011 | Summer | Turnip | Root | 8.9 | (0.6) | 9.4 | (0.9) | - | 95 |
| | | | Leaf | 8.7 | (1.0) | 10.0 | (1.3) | - | 88 |
| | | | Total | 17.6 | (1.5) | 19.3 | (2.2) | 16 | 91 |
| 2011 | winter | Spinach | Edible portion | 8.1 | (0.0) | 10.3 | (0.5) | 8 | 79 |
| 2012 | Summer | Carrot | Root | 12.3 | (0.5) | 12.1 | (0.2) | - | 101 |
| | | | Leaf | 10.0 | (0.6) | 9.7 | (0.8) | - | 103 |
| | | | Total | 22.3 | (0.1) | 21.8 | (0.5) | 16 | 102 |

1) Sludge-fertilizer-application plot

2) Standard plot

3) This value is shown in the recommending rate of fertilizer application (local government) exchanging aim yield (kg/10 a) to 4 m².

4) Fresh weight index of sludge-fertilizer-application plot when standard plot assume 100.

5) Standard deviation (n = 2 (2 repetition))

(2) 跡地土壌の pH

跡地土壌 pH の推移は Fig. 2 のとおりである。pH 6.0~6.6 とほぼ一定で推移しており、汚泥肥料施用区と標準区ではほぼ同程度で推移している。供試土壌が黒ボク土であることや、高分子凝集剤を使用したし尿汚泥肥料を供試肥料としているため、連用施用による pH の変動は少ないものとなっていると考えられる。土壌 pH の変動

は、土壌中カドミウムの作物体への可給性に影響を及ぼすことが知られている¹³⁾。跡地土壌の pH が最も低かった 2010 年夏作ホウレンソウ中のカドミウム濃度及び吸収量はこれまでの試験中最高数値となっていた (Fig. 2, Table 8 及び Table 9)。一方で、汚泥肥料施用区と標準区の跡地土壌 pH は、本試験では、ほぼ同程度で推移していることから、各試験でのカドミウム動態の試験区間差には土壌 pH は影響していないものと考えられる。

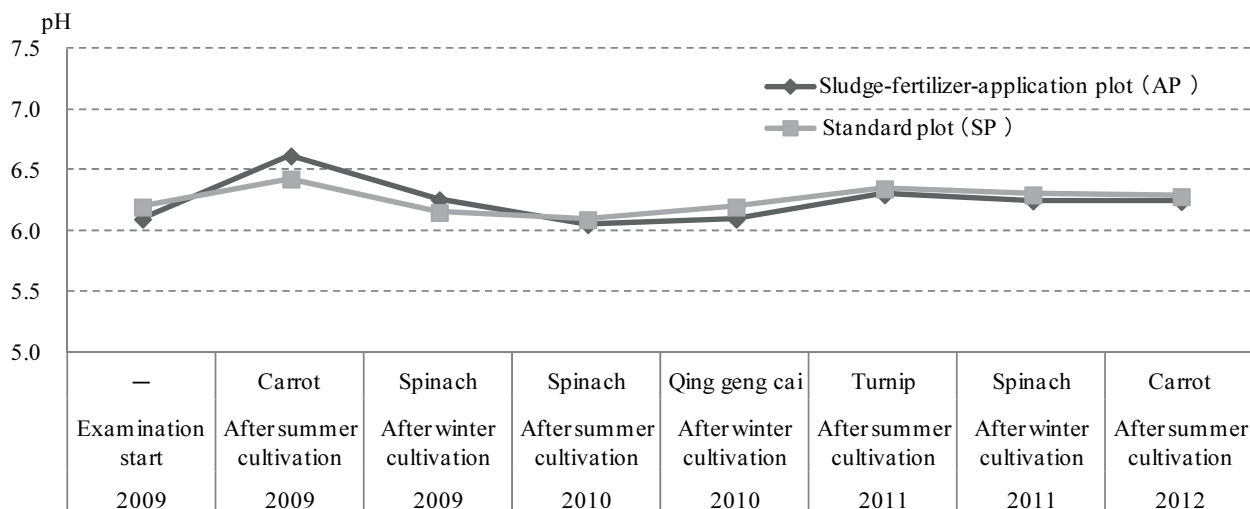


Fig. 2 Changes in the soil pH used in this study

(3) 跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度

跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移は Table 13 及び Fig.3 のとおりである。

汚泥肥料施用区及び標準区の 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の推移について傾向を把握するため、それぞれの処理区における、試験開始時からの経過月 (各試験の間隔は 6 ヶ月とした) に対する 0.1 mol/L HCl-Cd 濃度の線形単回帰分析を行った。2012 年夏作跡地までの汚泥肥料施用区の回帰は有意でなく (線形回帰からの分散分析の p 値により評価, 両側有意水準 5%), 一定で推移している傾向であった。標準区では、2011 年冬作跡地以降、回帰が有意となり (線形回帰からの分散分析の p 値により評価, 両側有意水準 5%), 下降傾向が認められ、両試験区間の差は大きくなる傾向であった。また、2009 年の試験開始後初めて、2011 年冬作において、汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高い濃度となった。その後の、2012 年夏作においても同様であった。これは、標準区は肥料由来のカドミウム負荷がないため、各試験において作物体の収穫により土壌中カドミウムの圃場外への持ち出しが継続されることにより、跡地土壌の 0.1 mol/L HCl-Cd についても減少する傾向となっていると考えられる。

また、過去 3 回実施したホウレンソウ試験の跡地土壌 0.1 mol /L HCl-Cd が前作跡地に比べて減少する傾向があり、標準区では 3 回全ての試験後で減少しているが、汚泥肥料施用区では、直近の 2011 年冬作跡地では増加傾向であった。これは、ホウレンソウは、他の供試作物に比べてカドミウム吸収量が多かったこと (Table 14) や、ホウレンソウのカドミウム吸収と 0.1 mol /L HCl-Cd 濃度に相関がある¹¹⁾ことなどが考えられる。

Table 13 Change of the 0.1 mol/L HCl-Cd density¹⁾ of ruins soil

| Year | Season | Test crops | AP ²⁾ | | SP ³⁾ | | t-test (difference between the processing) | p-value of single regression analysis ⁴⁾ | |
|------|--------|---------------|------------------|----------------------|------------------|--------|---|--|--------------------|
| | | | (mg/kg) | | (mg/kg) | | | AP ²⁾ | SP ³⁾ |
| 2009 | Start | — | 0.19 | (0.01) ⁵⁾ | 0.20 | (0.02) | n.s. ⁶⁾ | — | — |
| 2009 | Summer | Carrot | 0.21 | (0.01) | 0.21 | (0.02) | n.s. | — | — |
| 2009 | winter | Spinach | 0.20 | (0.003) | 0.18 | (0.01) | n.s. | — | — |
| 2010 | Summer | Spinach | 0.19 | (0.01) | 0.17 | (0.02) | n.s. | — | — |
| 2010 | winter | Qing geng cai | 0.18 | (0.02) | 0.18 | (0.01) | n.s. | 0.55 | 0.20 |
| 2011 | Summer | Turnip | 0.19 | (0.004) | 0.18 | (0.01) | n.s. | 0.41 | 0.11 |
| 2011 | winter | Spinach | 0.20 | (0.01) | 0.17 | (0.01) | significance ⁷⁾ | 0.63 | 0.03 ⁸⁾ |
| 2012 | Summer | Carrot | 0.19 | (0.005) | 0.15 | (0.01) | significance | 0.41 | 0.01 ⁸⁾ |

1) Content in the drying soil

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) The p-value which calculated from dispersion analysis for linear regression by examination start of each examination plot.

5) Standard deviation ($n = 4$ (2 repetition \times 2 number of samples (2)))

6) It is no significantly different for Processing examination section (t-test, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4$ (2 repetition \times 2 number of samples (2)))

7) It is significantly different for Processing examination section (t-test, 5% of both sides levels of significance, $n = 4$ (2 repetition \times 2 number of samples (2)))

8) It show that regression is significant in $p < 0.05$ (5 % of both sides levels of significance).

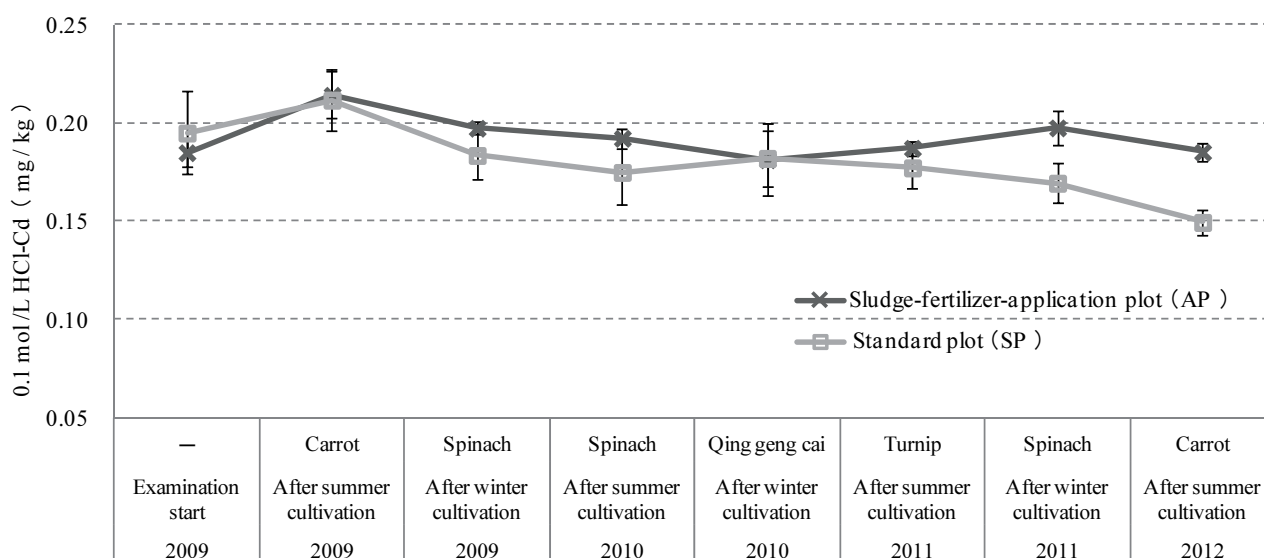


Fig. 3 Change of 0.1 mol /L HCl-Cd density in the ruins soil
(The error bar indicating the standard deviation)

Table 14 Absorption and the amount of cadmium concentration of each crops in 2009~2012

| Year | Season | Test crops | Part | Cadmium Concentration ¹⁾ | | | Quantity of cadmium uptake | | |
|---------------|--------|------------------|----------------|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | | | | AP ²⁾ (mg/kg) | SP ³⁾ (mg/kg) | t-test | AP ²⁾ (mg/plot) | SP ³⁾ (mg/plot) | t-test |
| 2009 | Summer | Carrot | Root | 0.12 (0.01) ⁴⁾ | 0.11 (0.02) | n.s. ⁵⁾ | 0.21 (0.02) | 0.20 (0.03) | n.s. |
| | | | Leaf | 0.24 (0.02) | 0.22 (0.02) | n.s. | 0.32 (0.02) | 0.31 (0.01) | n.s. |
| | | | Total | - | - | - | 0.54 (0.03) | 0.50 (0.04) | n.s. |
| 2009 | winter | Spinach | Edible portion | 0.62 (0.01) | 0.61 (0.02) | n.s. | 1.18 (0.004) | 1.34 (0.02) | signifi- cance |
| 2010 | Summer | Spinach | Edible portion | 1.40 (0.10) | 1.56 (0.07) | n.s. | 0.72 (0.04) | 0.96 (0.01) | signifi- cance |
| 2010 | winter | Qing geng cai | Edible portion | 0.20 (0.01) | 0.17 (0.01) | signifi- cance ⁶⁾ | 0.21 (0.01) | 0.21 (0.01) | n.s. |
| 2011 | Summer | Turnip | Root | 0.08 (0.01) | 0.08 (0.002) | n.s. | 0.04 (0.003) | 0.04 (0.00) | n.s. |
| | | | Leaf | 0.16 (0.01) | 0.17 (0.01) | n.s. | 0.10 (0.01) | 0.11 (0.01) | n.s. |
| | | | Total | - | - | - | 0.15 (0.01) | 0.16 (0.01) | n.s. |
| 2011 | Winter | Spinach | Edible portion | 0.53 (0.01) | 0.36 (0.02) | signifi- cance | 0.68 (0.02) | 0.58 (0.05) | signifi- cance |
| 2012 | Summer | Carrot | Root | 0.24 (0.01) | 0.23 (0.01) | n.s. | 0.32 (0.01) | 0.30 (0.02) | n.s. |
| | | | Leaf | 0.31 (0.01) | 0.29 (0.02) | n.s. | 0.41 (0.005) | 0.38 (0.04) | n.s. |
| | | | Total | - | - | - | 0.73 (0.02) | 0.68 (0.06) | n.s. |
| The sum total | | | | - | - | - | 4.21 (0.06) | 4.44 (0.08) | signifi- cance |

1) Content in the drying soil

2) Sludge-fertilizer-application plot

3) Standard plot

4) Standard deviation ($n = 4$ (2 repetition \times number of samples(2)))

5) It is no significantly different for processing examination section (t-test, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4$ (2 repetition \times 2 number of samples (2)))

6) It is significantly different for processing examination section (t-test, 5 % of both sides levels of significance, $n = 4$ (2 repetition \times 2 number of samples (2)))

(4) 作物体のカドミウム濃度及び吸収量

各試験での作物体のカドミウム濃度及び吸収量の推移は Table 14 のとおりである。ニンジンについては過去 2 回、ホウレンソウについては過去 3 回試験を実施しているが、試験を行った年や季節によって作物体のカドミウム濃度は変動していた。これは、栽培期間中の降水量や気温等の気象条件が影響していると考えられる¹⁴⁾。

2009年冬作及び2010年夏作ホウレンソウでは、カドミウム吸収量において標準区が汚泥肥料施用区に比べて有意に多い結果となった。これは、汚泥肥料施用区に比べて標準区の収量が多かったためと考えられた。一方で、作物体中のカドミウム濃度では両試験区で差は認められず、ホウレンソウの生育量とカドミウム濃度に関する関係は認められないという報告¹⁵⁾と一致する結果であった。

2010年冬作チンゲンサイでは、カドミウム濃度において汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高い値を示したが、カドミウム吸収量は両試験区間で同程度であった。これは、汚泥肥料施用区に比べて標準区の収量が多かったためと考えられた。

また、試験開始から初めて2011年冬作ホウレンソウにおいて、汚泥肥料施用区が標準区に比べてカドミウム濃度及び吸収量の両方において有意に高い値を示した。これは、跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度についても同様な結果となった(Table 7)。ホウレンソウについては、作物体のカドミウム吸収と土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度に相関があるという報告¹¹⁾があり、これと一致する結果であった。その後実施した2012年夏作ニンジンでは跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度は汚泥肥料施用区が有意に高かったが、作物体のカドミウム濃度及び吸収量に試験区間で差は認められなかった。ニンジンのカドミウム吸収には、土壌の0.1 mol/L HCl-Cd濃度との相関が認められないという報告¹⁶⁾があり、このことが原因の一つとして考えられる。

今後も同様の結果となるか、推移を引き続き確認することとする。

(5) 作物体のカドミウム負荷量、持出し量及び蓄積量

各試験での肥料由来のカドミウム負荷量、作物体によるカドミウム持出し量、土壌へのカドミウム蓄積量及び負荷濃度の推移はTable 15のとおりである。施用肥料のカドミウム含有量に施用量を乗じて、土壌へのカドミウム負荷量とした。カドミウム持出し量は、収穫した作物体のカドミウム吸収量とした。施用肥料によるカドミウム負荷量と作物体によるカドミウム持出し量の差をカドミウム蓄積量とした。カドミウム蓄積量を試験区当たりの土壌量(作土の深さ15 cm, 土壌の仮比重0.67とし、試験区当たりの土壌量を400 kgとした)で除して、土壌へのカドミウム蓄積濃度とした。

カドミウム持出し量については、これまで実施した7作の試験の合計は、汚泥肥料施用区で4.21 mg、標準区で4.44 mgであり標準区の持出し量が有意に高値を示した(有意差検定結果は、Table 14 カドミウム吸収量の総計を参照)。これは、無機質試葉のみを施肥している標準区の収量が汚泥肥料施用区よりも高くなったこと(Table 12)が要因と考えられる。

汚泥肥料施用区では、各試験において、カドミウム負荷量に比べて持出し量が少ないことから土壌のカドミウム収支がプラスとなるため、汚泥肥料の連用によるカドミウム負荷量の増加に伴って土壌蓄積するカドミウムが高まる方向であることが考えられた。一方で、過去7作の試験における汚泥肥料施用区のカドミウム蓄積濃度の合計は0.071 mg/kgとなった(Table 15)。しかし、Table 13及びFig. 3のとおり、汚泥肥料施用区の土壌中の0.1 mol/L HCl-Cd濃度は試験開始からほぼ一定で推移している。このことから、土壌中に負荷されたカドミウムは水平や下方移動により作土に留まらないものがあること^{17, 18)}や、土壌や汚泥肥料中の有機物等と結合すること¹⁹⁾により0.1 mol/L HCl-Cd以外の形態として作土中に蓄積していることが考えられた。

Table 15 Change of the 2009~2012 year of the quantity of cadmium load by fertilizer¹⁾, quantity of peculating due to the crops body¹⁾, and quantity of cadmium accumulation to the soil¹⁾

| Year | Season | Test crops | Sludge-fertilizer-application plot (AP) | | | | Standard plot (SP) | | | |
|-----------|-----------|---------------|---|-----------|--------------|---------------------------------------|---------------------|---------|--------------|---------------------------------------|
| | | | Quantity of cadmium | | | Concentration of cadmium accumulation | Quantity of cadmium | | | Concentration of cadmium accumulation |
| | | | load | removal | accumulation | | load | removal | accumulation | |
| (mg/plot) | (mg/plot) | (mg/plot) | (mg/kg) | (mg/plot) | (mg/plot) | (mg/plot) | (mg/kg) | | | |
| 2009 | Summer | Carrot | 4.84 | 0.54 | 4.30 | 0.011 | 0 | 0.50 | -0.50 | -0.001 |
| 2009 | Winter | Spinach | 4.40 | 1.18 | 3.22 | 0.008 | 0 | 1.34 | -1.34 | -0.003 |
| 2010 | Summer | Spinach | 3.30 | 0.72 | 2.58 | 0.006 | 0 | 0.96 | -0.96 | -0.002 |
| 2010 | Winter | Qing geng cai | 2.64 | 0.21 | 2.43 | 0.006 | 0 | 0.21 | -0.21 | -0.001 |
| 2011 | Summer | Turnip | 3.30 | 0.15 | 3.15 | 0.008 | 0 | 0.16 | -0.16 | 0.000 |
| 2011 | Winter | Spinach | 7.04 | 0.68 | 6.35 | 0.016 | 0 | 0.58 | -0.58 | -0.001 |
| 2012 | Summer | Carrot | 7.28 | 0.73 | 6.55 | 0.016 | 0 | 0.68 | -0.68 | -0.002 |
| Total | | | 32.80 | 4.21 | 28.59 | 0.071 | 0.00 | 4.44 | -4.44 | -0.011 |

1) It show every test plot.

5. まとめ

肥料の有効性及び安全の確保に必要な課題に関する調査研究として、汚泥肥料の連用施用試験を2009年より引き続き行っており、汚泥肥料施用区及び汚泥肥料無施用の標準区の2試験区に、2011年冬作としてハウレンソウを、2012年夏作としてニンジン栽培し、土壌中のカドミウム濃度の変化及び作物体へのカドミウム吸収量を確認した。その結果、跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cdは汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高濃度であった。作物体のカドミウム濃度及び吸収量は2011年冬作ハウレンソウにおいては、汚泥肥料施用区が標準区に比べて有意に高値を示したが、2012年夏作ニンジンでは、両試験区に差は認められなかった。また、2009年からの結果の推移についても整理したところ、今回の試験（2011年冬作ハウレンソウ）で初めて汚泥肥料施用区で跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cdが標準区に比べて有意に高濃度となった。跡地土壌の0.1 mol/L HCl-Cdの推移は、標準区では、下降傾向が認められたが、汚泥肥料施用区は一定で推移しており、汚泥肥料の連用施用による上昇又は下降傾向は認められなかった。

当該試験は引き続き連用試験として実施していく予定である。

文 献

- 1) 農林水産省告示:肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和61年2月22日, 農林水産省告示第284号, 最終改正平成24年8月8日, 農林省告示第44号 (2012)
- 2) 舟津正人, 阿部文浩, 添田英雄:カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響, 肥料研究報告, **4**, 74~84 (2011)
- 3) 舟津正人, 山西正将, 阿部文浩:カドミウムの土壌蓄積及び作物吸収における汚泥肥料連用の影響(続報), 肥料研究報告, **5**, 60~68 (2012)
- 4) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>

- 5) 農林水産省ホームページ:都道府県施肥基準等 主要農作物施肥基準, 埼玉県
<http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_sehi_kizyun/sai05.html>
- 6) Perkin Elmer 社:マイクロ波分解装置取扱説明書, 分解メソッド集, ホウレンソウ
- 7) 財団法人日本土壌協会:土壌, 水質及び植物体分析法, 東京 (2001)
- 8) 農林省省令:農用地土壌汚染対策地域の指定要件に係るカドミウムの量の検定の方法を定める省令, 昭和46年6月24日農林省令第47号, 最終改正平成12年6月1日総理府令第58号 (2000)
- 9) 農林水産省:地力増進基本指針, 平成20年10月16日
<http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_dozyo/pdf/chi4.pdf>
- 10) 農林水産技術会議事務局:農林水産生態系における有害化学物質の総合管理技術の開発, 研究成果,
471, 220~225 (2009)
- 11) 砂川 匡, 袖垣一也, 安田雅晴, 沢野定憲:ホウレンソウのカドミウム吸収特性の解明と含量予測技術の開発,
岐阜県農業技術センター研究報告, 8, 26~33 (2008)
- 12) 有機性汚泥の緑農地利用委員会:有機性汚泥の緑農地利用, 106, 博友社, 東京 (1991)
- 13) 有機性汚泥の緑農地利用委員会:有機性汚泥の緑農地利用, 119, 博友社, 東京 (1991)
- 14) 佐野健人・松本栄一・中村憲治:ホウレンソウのカドミウム吸収能に関する品種間差異のほ場における
検証(2), 農用地土壌のカドミウムによる農作物汚染リスク予測技術の開発に関する研究成果集
(H17.12), 84~87 (2005)
- 15) 伊藤純雄, 菊地 直, 加藤直人:ホウレンソウ類のカドミウム吸収に関わる品種間差の生育条件による変動
とそれに基づく吸収程度の相対的序列の推定, 中央農研研究報告, 14, 1~15 (2010)
- 16) 八槇 敦:各種抽出法による土壌のカドミウム含量と野菜のカドミウム吸収との関係, 日本土壌肥料学会講
演要旨集, 55, 283 (2009)
- 17) 有機性汚泥の緑農地利用委員会:有機性汚泥の緑農地利用, 124~127, 博友社, 東京 (1991)
- 18) 岡本 保:下水汚泥の農業利用上の留意点, 再生と利用, 34 (127), 74~81 (2010)
- 19) 独立行政法人農業環境技術研究所:農作物中のカドミウム低減対策技術集, 49 (2011)
<http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/cadmium_control.pdf>

Effect of Continuous Application of Sludge Fertilizer on Cadmium Absorption of the Crop and Accumulation of Cadmium in the Soil (Continued Report)

Toshiaki HIROI¹, Masahiro ECHI¹, Masayuki YAMANISHI² and Fumihiro ABE¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Kobe Regional Center

This research is monitoring the change of the cadmium which was dissolved with 0.1 mol/L hydrochloric acid (acid-solubility-Cd) from the soil. We are investigating the cadmium absorption by the crop since 2009. Test field is the upland fields derived from Andosol, and the used fertilizer is sludge fertilizer and chemical fertilizer. In 2012, we were cultivated the carrot in summer, and the spinach in winter. Those crops were cultivated in the standard plot (SP) and the sludge-fertilizer-application plot (AP). The SP used only reagents. The AP used the sludge fertilizer of 500 kg/10a (fresh weight). It calculated available nitrogen include 50%. Other ingredients used a reagent. The amount of nitrogen, phosphorus and potassium applied to each plot was designed on the basis of fertilization standard showed by MAFF web site. Total cadmium amount in the turnip and acid-solubility-Cd in soil after harvest were measured by a inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). As a result, the cadmium content in the soil of AP was similar to that in SP.

Key words sludge fertilizer, continuous application, cadmium

(Research Report of Fertilizer, 6, 43~60, 2013)

7 2012年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた

肥料の共同試験成績の解析

舟津正人¹, 渡部絵里菜², 阿部進³, 白井小枝⁴,
稲葉茂幸⁵, 八木啓二⁶, 白井裕治¹, 上沢正志⁷

キーワード 外部精度管理, 液状複合肥料, 鉍さいけい酸質肥料, ISO/IEC Guide 43-1,
ISO/IEC 17025, z スコア

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025 (JIS Q 17025)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保についての考え方が重視されている. その要求事項には, 他機関との試験成績の整合性確認及び外部機関による試験成績の信頼性の確保が必須となっており, 試験所は共通試料による試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施する等, 試験の信頼性確保に努めている.

肥料生産事業場の品質管理室, 肥料検査機関の試験所等においても, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のために管理用試料又は肥料認証標準物質²⁾による内部精度管理が日常的になりつつある. 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) においても立入検査で収去した肥料の主成分及び有害成分の調査分析は不可欠であり, その試験法には信頼性の確保が求められる.

これまで外部精度管理としての共通試料による肥料の共同試験は, 全国 6 か所の肥料品質保全協議会が個々に試料調製及び解析を行ってきた. しかし, 試験成績数が増加することで解析精度の向上が図れることから, 2006 年度より肥料品質保全協議会等の試験所を中心に全国共通の試料を用いた共同試験を実施している. 均質性試験及び共同試験成績について ISO/IEC Guide 43-1:1997 (JIS Q 0043-1:1998)³⁾を参考に解析しており, 2012 年度は液状複合肥料及び鉍さいけい酸質肥料について全国共通試料を調製し, 共同試験を実施したのでその結果を報告する.

2. 材料及び方法

1) 共同試験用試料調製

液状複合肥料は, 20 kg 入りの 4 容器を 1 容器に移し静かに混合した後, 約 250 g 入りの試料 280 個を調製し内蓋付き容器に移し込み配付時まで常温保管した.

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

⁴ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター

⁵ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

⁶ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

⁷ 財団法人日本肥糧検定協会

鉍さいけい酸質肥料は、粉碎して目開き 212 μm の網ふるいを全通させたのち、試料をよく混合して 9 等分した。この中から表 1 の混合操作表の組合せに従い 4 区分を抽出し、よく混合したのち 4 等分して元に戻した。この操作を 7 回繰り返した後、各区分から一定量ずつ採取し、1 袋当たり約 180g 入りの試料 160 個を調製し、よく混合した後、ポリエチレン製袋で密封し配付まで常温保管した。

表1 混合操作表

| 混合回数 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|------|---|---|---|---|---|---|---|
| | 4 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 4 |
| 区分番号 | 6 | 5 | 2 | 4 | 3 | 3 | 5 |
| | 8 | 7 | 3 | 7 | 5 | 4 | 6 |
| | 9 | 8 | 6 | 9 | 7 | 8 | 9 |

2) 均質性確認試験

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル⁴⁾の均質性試験に従い、2.1) で調製した共同試験用試料から 10 試料ずつ抜き取り均質性確認用試料とした。液状複合肥料については水溶性りん酸 (W-P₂O₅) 及び亜鉛 (Zn)、鉍さいけい酸質肥料についてはく溶性苦土 (C-MgO) を各均質性確認用試料につき 2 点併行で試験して均質性確認試験の成績とした。

3) 配付

試料番号を付した試料、実施要領及び分析成績報告書をそれぞれ参加した試験室に送付した。

3. 共同試験成績の試験項目及び試験方法

1) 試験項目

液状複合肥料については、アンモニア性窒素 (A-N)、硝酸性窒素 (N-N)、水溶性りん酸 (W-P₂O₅)、水溶性加里 (W-K₂O)、水溶性苦土 (W-MgO)、水溶性マンガン (W-MnO)、水溶性ほう素 (W-B₂O₃)、鉄 (Fe)、銅 (Cu)、亜鉛 (Zn) 及びモリブデン (Mo) の 11 項目を試験項目とした。また、鉍さいけい酸質肥料については、可溶性けい酸 (S-SiO₂)、アルカリ分 (AL) 及びく溶性苦土 (C-MgO) の 3 項目を試験項目とした。

2) 試験方法

肥料分析法 (1992 年版)⁵⁾を次のとおり例示した。なお、その他の試験方法を採用した試験室には、その方法の概要の報告を求めた。

(1) アンモニア性窒素 (A-N) は、肥料分析法 4.1.2.1 (蒸留法).C.1) により試料溶液を調製、同項.D により定量。

(2) 硝酸性窒素 (N-N) は、窒素全量を肥料分析法 4.1.3.1 (還元鉄法).C により測定し (1) で求めたアンモニア性窒素分を差し引いて定量する。又は、窒素全量を 4.1.3.2 (デバルダ合金法).C により測定し、(1) で求めたアンモニア窒素分を差し引いて定量する。又は、肥料分析法 4.1.3.4 (フェノール硫酸法).D により試料溶液を調製し同項.E.1) により定量する。

(3) 水溶性りん酸 (W-P₂O₅) は、肥料分析法 4.2.1.C.b により試料溶液を調製、4.2.3 (バナドモリブデン酸アン

モニウム法).E.aにより定量.

(4) 水溶性加里(W-K₂O)は、肥料分析法 4.3.1.C.b.2) (付記)により試料溶液を調製, 4.3.3(フレイム光度法または原子吸光法).Eにより定量.

(5) 水溶性苦土(W-MgO)は、肥料分析法 4.6.1.C.bにより試料溶液を調製, 4.6.2(原子吸光法).Eにより定量.

(6) 水溶性マンガン(W-MnO)は、肥料分析法 4.2.1.C.bにより試料溶液を調製, 4.7.3(原子吸光法).Eにより定量.

(7) 水溶性ほう素(W- B₂O₃)は、肥料分析法 4.8.2.Dにより試料溶液を調製, 4.8.3(アズメチンH法).Eにより定量.

(8) 鉄(Fe)は、肥料分析法 5.1.1.D.bにより試料溶液を調製, 5.17.2(原子吸光法).Eにより定量.

(9) 銅(Cu)は、肥料分析法 5.1.1.D.bにより試料溶液を調製, 5.18.2(原子吸光法).Eにより定量.

(10) 亜鉛(Zn)は、肥料分析法 5.1.1.D.bにより試料溶液を調製, 5.1.2(原子吸光法).Eにより定量.

(11) モリブデン(Mo)は、肥料分析法 5.1.1.D.bにより試料溶液を調製, 5.27.1(チオシアン酸ナトリウム法).Eにより定量. または、肥料分析法 5.27.1.D.bにより試料溶液を調製, 5.27.2(原子吸光法).Eにより定量.

(12) 可溶性けい酸(S-SiO₂)は、肥料分析法 4.4.1.B.bにより試料溶液を調製, 4.4.3(フッ化カリウム法).Dにより定量.

(13) アルカリ分(AL)は、肥料分析法 4.5.1.1.C.bにより試料溶液を調製, 4.5.2.2(エチレンジアミン四酢酸塩法(以下「EDTA法」という).Dにより定量.

又は、同様の方法で試料溶液を調製, 可溶性石灰(S-CaO)(肥料分析法 4.5.1.2.E)及び可溶性苦土(S-MgO)(肥料分析法 4.6.2.E)を測定, 肥料分析法 4.5.2.3(原子吸光法).Eにより算出. なお, 当該肥料はマンガンを含有していない.

(14) 可溶性苦土(C-MgO)は、肥料分析法 4.2.1.C.dにより試料溶液を調製, 4.6.1(EDTA法).D.bにより定量. 又は、同様の方法で試料溶液を調製, 4.6.2(原子吸光法).Eにより定量. なお, 当該肥料はマンガンを含有していない.

4. 統計解析方法及び試験成績の評価方法

1) 報告された試験成績の評価

(1) ロバスト法によるzスコアの求め方

まず、全体の値の中央値(Median)を求めた. 次に、上四分位数及び下四分位数を求め、(a)式により四分位範囲(IQR)を算出した.

$$\text{IQR} = \text{下四分位数} - \text{上四分位数} \quad \dots (a)$$

標準化された四分位範囲(NIQR)を(b)式により算出した. 正規分布の場合、NIQRと標準偏差は一致する.

$$\text{NIQR} = \text{IQR} \times 0.7413 \quad \dots (b)$$

zスコア(z)を(c)式により算出した. zスコアは、各試験室の試験成績(x_i)のMedianからの隔たり度合いを示す指標である.

$$z = (x_i - \text{Median}) / \text{NIQR} \quad \dots (c)$$

(2) zスコアによる評価

データの解析手法として、ISO/IEC Guide 43-1 (JIS Q 0043-1)³⁾を用い、各試験室の試験成績のzスコアより次のように評価を行った。

| | |
|---------------|--------|
| $ z \leq 2$ | … 満足 |
| $2 < z < 3$ | … 疑わしい |
| $ z \geq 3$ | … 不満足 |

2) 試験成績全体を評価する統計量

各成分の報告された試験成績全体を評価するため、次の統計量を求めた。

- (1) 参加試験室数(データ数: N).
- (2) z スコアによる評価が $|z| \leq 2$ (満足), $2 < |z| < 3$ (疑わしい)及び $|z| \geq 3$ (不満足)となった試験室数及びその割合(%).
- (3) 外れ値を棄却しない全データの平均値(Mean).
- (4) 全体の値の中央値(Median).
- (5) NIQR を標準偏差とみなした Median の拡張不確かさ($U_{95\%}$) (包含係数: $k=2$)を(d)式により算出。

$$U_{95\%} = 2 \times \text{NIQR} / \sqrt{N} \quad \dots (d)$$

- (6) 全データの標準偏差(SD).
- (7) 標準化された四分位範囲(NIQR)を(b)式により算出した。正規分布の場合、NIQR は SD と一致する。
- (8) Horwitz 修正式^{6~8)} ((e) ~ (g) 式)より、平均的な室間再現標準偏差(Horwitz' SD: HSD)を算出した。なお、C は各成分の含有量の割合で 1% の場合は 0.01 という値になる。

$$\text{HSD} = 0.01 \times C^{0.5} \quad (0.138 < C) \quad \dots (e)$$

$$\text{HSD} = 0.02 \times C^{0.8495} \quad (1.2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0.138) \quad \dots (f)$$

$$\text{HSD} = 0.22 \times C \quad (C < 1.2 \times 10^{-7}) \quad \dots (g)$$

- (9) RSD_{rob} は、ロバスト法から求めた相対標準偏差の表現であり、(h)式により算出した。

$$\text{RSD}_{\text{rob}} = \text{NIQR} / \text{Median} \quad \dots (h)$$

- (10) $\text{HorRat}_{\text{rob}}$ は、ロバスト法から求めた HorRat 値の表現であり、(i)式により算出した。HorRat 値は、共同試験で得られた室間再現相対標準偏差が、過去の実験に基づく室間再現相対標準偏差の予測値に比べてどの程度かを確認する指標である。AOAC のガイドラインでは、 $0.5 \leq \text{HorRat 値} \leq 2$ を許容範囲としている。

$$\text{HorRat}_{\text{rob}} = \text{NIQR} / \text{HSD} \quad \dots (i)$$

5. 結果及び考察

1) 共同試験用試料の均質性確認

均質性試験の成績及び繰返し 2 回×10 試料の一元配置による分散分析から得られた統計量を表 2 に示した。亜鉛及びびく溶性苦土の分散比は F 境界値を下回ることから有意水準 5 % で試料間に有意な差はないことを確認した。水溶性りん酸に関しては、F 境界線を越える値となったため、IUPAC/ISO/AOAC の新たなる統計手法に記載されている統計法により処理したところ次式のとおりであり、有意差は認められず、試験に用いる試料については、均一性を有することが確認された。また、試料間の相対標準偏差は 0.5 % ~ 1.5 % であり、全ての種類の分析用試料は均質であることを確認した。

$$S^2_{\text{sam}} \leq F_1 \sigma^2_{\text{all}} + F_2 S^2_{\text{an}} \quad \text{判定式}$$

$$0.000363333 \leq 0.001986 \quad \text{(均質)}$$

表2 均質性確認試験の結果

| 肥料の種類 | 分析成分 | Mean ¹⁾ (%) | SD ²⁾ (%) | RSD ³⁾ (%) | F値 ⁴⁾⁵⁾ |
|-----------|---------------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------|
| 液状複合肥料 | W-P ₂ O ₅ | 2.88 | 0.05 | 0.5 | 3.11 |
| | Zn | 0.062 | 0.01 | 0.5 | 1.81 |
| 鉍さいけい酸質肥料 | C-MgO | 6.81 | 0.05 | 1.5 | 1.93 |

- 1) 10試料2点併行分析の総平均定量値
- 2) 試料間の標準偏差
- 3) 試料間の相対標準偏差
- 4) 一元分散分析値により算出された分散比
- 5) F(9,10;0.05) : 3.02

2) 試験成績の解析結果

4.2) (1) の試験室数及び z スコアで評価された各試験室数及びその割合を表 3 に示した。各成分の試験成績で「満足」との評価を受けた試験室の割合は、鉍さいけい酸質肥料中の AL(S-MgO) が 91 % と最も高く、液状複合肥料中の A-N が 78 % と最も低い割合を示した。一方、「不満足」と評価を受けた試験室は、液状複合肥料では Cu の 15 %、鉍さいけい酸質肥料中では C-MgO の 11 % が最も「不満足」が多い結果となった。

4.2) (3) ~ (10) で求めた統計量を表 4 に示した。大部分の成分で全体の Mean は、Median とほぼ一致しており、外れ値の影響を受けていなかった。しかしながら、全体の標準偏差 SD は、ロバスト法によって得られた NIQR に比較して大きな値を示し、外れ値の影響を受けていた。このことから、NIQR を標準偏差とみなして Median との関係を図 1 に示し、Horwitz 修正式から得られた HSD、HSD×0.5 及び HSD×2 を同図に表示した。

2006~2012 年度に実施した試験項目の Median、NIQR、RSD_{rob} 及び HorRat_{rob} 等について、液状複合肥料は表 5-1 に、鉍さいけい酸質肥料は表 5-2 に示した。また、本年度 9 試験室以上報告のあった試験方法別の Median、NIQR、RSD_{rob}、HorRat_{rob} 及び HSD を表 6 に示した。

表3 zスコアによる試験成績の評価

| 試験項目 | 参加 試験 室数 | $ z \leq 2$ ¹⁾ | | $2 < z < 3$ ²⁾ | | $3 \leq z $ ³⁾ | |
|---------------------------------|----------------|----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| | | 試験 室数 | 割合 (%) | 試験 室数 | 割合 (%) | 試験 室数 | 割合 (%) |
| (液状複合肥料) | | | | | | | |
| A-N | 130 | 102 | 78 | 12 | 9 | 16 | 12 |
| N-N | 115 | 98 | 85 | 6 | 5 | 11 | 10 |
| W-P ₂ O ₅ | 131 | 111 | 85 | 8 | 6 | 12 | 9 |
| W-K ₂ O | 131 | 112 | 85 | 3 | 2 | 16 | 12 |
| W-MgO | 116 | 99 | 85 | 8 | 7 | 9 | 8 |
| W-MnO | 112 | 93 | 83 | 6 | 5 | 13 | 12 |
| W-B ₂ O ₃ | 103 | 89 | 86 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Fe | 86 | 68 | 79 | 7 | 8 | 11 | 13 |
| Cu | 88 | 71 | 81 | 4 | 5 | 13 | 15 |
| Zn | 87 | 72 | 83 | 4 | 5 | 11 | 13 |
| Mo | 52 | 45 | 87 | 0 | 0 | 7 | 13 |
| (鉱さいけい酸質肥料) | | | | | | | |
| S-SiO ₂ | 62 | 55 | 89 | 1 | 2 | 6 | 10 |
| AL | 77 | 67 | 89 | 6 | 8 | 4 | 5 |
| S-CaO | 59 | 49 | 83 | 4 | 7 | 6 | 10 |
| S-MgO | 58 | 53 | 91 | 0 | 0 | 5 | 9 |
| C-MgO | 81 | 68 | 84 | 4 | 5 | 9 | 11 |

1) zスコアによる評価が満足 ($|z| \leq 2$)となった試験室数及びその割合(%)

2) zスコアによる評価が疑わしい ($2 < |z| < 3$)となった試験室数及びその割合(%)

3) zスコアによる評価が不満足 ($3 \leq |z|$)となった試験室数及びその割合(%)

表4 共同試験成績の統計量

| 試験項目 | Mean ¹⁾ (%) | Median ²⁾ (%) | $U_{95\%}$ ³⁾ (%) | SD ⁴⁾ (%) | NIQR ⁵⁾ (%) | HSD ⁶⁾ (%) | RSD _{rob} ⁷⁾ (%) | HorRat _{rob} ⁸⁾ |
|---------------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---|-------------------------------------|
| (液状複合肥料) | | | | | | | | |
| A-N | 2.41 | 2.39 | 0.01 | 0.16 | 0.04 | 0.08 | 1.9 | 0.53 |
| N-N | 2.16 | 2.17 | 0.02 | 0.30 | 0.10 | 0.08 | 4.8 | 1.34 |
| W-P ₂ O ₅ | 2.90 | 2.86 | 0.01 | 0.21 | 0.06 | 0.10 | 2.1 | 0.61 |
| W-K ₂ O | 2.42 | 2.43 | 0.01 | 0.18 | 0.06 | 0.09 | 2.4 | 0.68 |
| W-MgO | 1.71 | 1.68 | 0.01 | 0.13 | 0.05 | 0.06 | 3.1 | 0.83 |
| W-MnO | 1.24 | 1.25 | 0.01 | 0.10 | 0.03 | 0.05 | 2.4 | 0.61 |
| W-B ₂ O ₃ | 0.241 | 0.240 | 0.002 | 0.014 | 0.009 | 0.012 | 3.6 | 0.72 |
| Fe | 0.242 | 0.240 | 0.003 | 0.068 | 0.013 | 0.012 | 5.4 | 1.09 |
| Cu | 0.0546 | 0.0545 | 0.0003 | 0.005 | 0.0014 | 0.0034 | 2.6 | 0.42 |
| Zn | 0.0595 | 0.0595 | 0.0006 | 0.008 | 0.0029 | 0.0036 | 4.8 | 0.78 |
| Mo | 0.210 | 0.210 | 0.003 | 0.028 | 0.010 | 0.011 | 4.7 | 0.92 |
| (鉍さいけい酸質肥料) | | | | | | | | |
| S-SiO ₂ | 35.90 | 36.15 | 0.13 | 0.99 | 0.48 | 0.60 | 1.3 | 0.80 |
| AL | 49.99 | 49.95 | 0.16 | 1.40 | 0.71 | 0.71 | 1.4 | 1.01 |
| S-CaO | 40.59 | 40.55 | 0.16 | 1.95 | 0.62 | 0.64 | 1.5 | 0.97 |
| S-MgO | 6.83 | 6.86 | 0.04 | 0.71 | 0.14 | 0.21 | 2.1 | 0.70 |
| C-MgO | 6.55 | 6.77 | 0.04 | 0.54 | 0.19 | 0.20 | 2.8 | 0.95 |

1) 全体の平均値

2) 全体の中央値

3) 全体の中央値の不確かさ

4) 全体の標準偏差

5) 標準化された四分位範囲

6) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

7) ロバスト法から求めた相対標準偏差

8) ロバスト法から求めたHorRat値

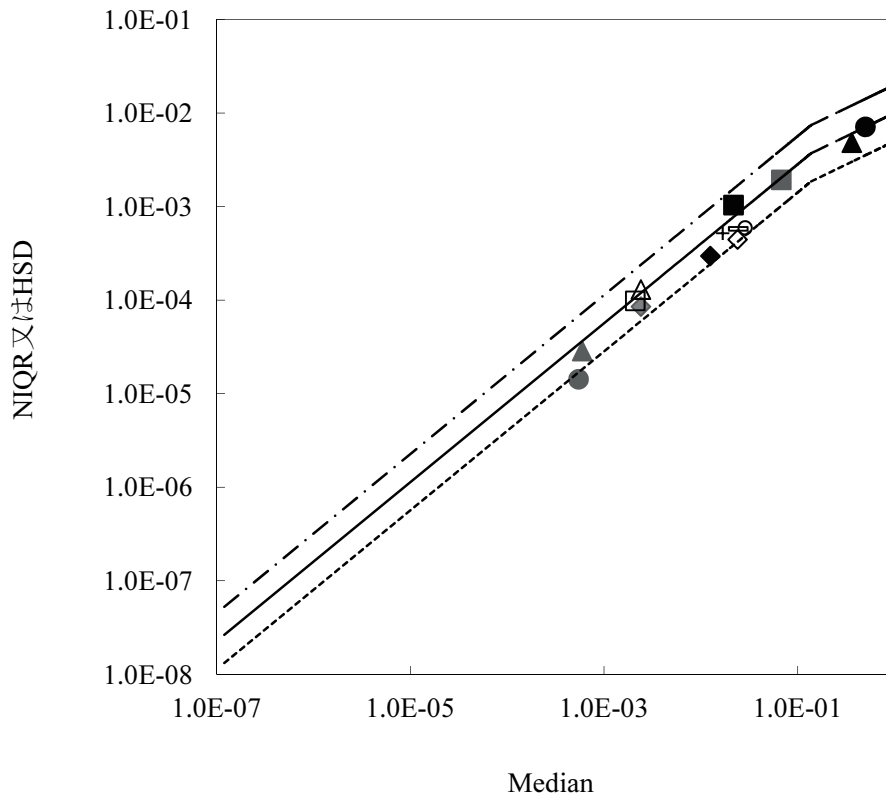


図1 共同試験のNIQRとHorwitz修正式との関係

- | | |
|---------------------------|----------------------|
| ◇ A-N(液状複合肥料) | ■ N-N(液状複合肥料) |
| ○ W-P2O5(液状複合肥料) | = W-K2O(液状複合肥料) |
| + W-MgO(液状複合肥料) | ◆ W-Mn(液状複合肥料) |
| ◆ W-B(液状複合肥料) | △ Fe(液状複合肥料) |
| ● Cu(液状複合肥料) | ▲ Zn(液状複合肥料) |
| □ Mo(液状複合肥料) | ▲ S-SiO2 (鉍さいけい酸質肥料) |
| ● AL (鉍さいけい酸質肥料) | ■ C-MgO (鉍さいけい酸質肥料) |
| — · — · 累乗 (Horwitz修正式×2) | —— 累乗 (Horwitz修正式) |
| ----- 累乗 (Horwitz修正式×0.5) | |

表5-1 複合肥料における2006～2012年度の共同試験成績の統計量

| 試験項目 | 実施年 | 試験項目に由来する主な原料名 | 参加試験室数 | Median ¹⁾ (%,mg/kg) ⁶⁾ | NIQR ²⁾ (%,mg/kg) | RSD _{rob} ³⁾ (%) | HorRat _{rob} ⁴⁾ | HSD ⁵⁾ (%,mg/kg) |
|---------------------------------|------|---------------------|--------|---|---------------------------------|---|-------------------------------------|--------------------------------|
| Mois | 2006 | | 147 | 1.70 | 0.30 | 17.7 | 4.78 | 0.06 |
| | 2007 | | 146 | 4.99 | 0.35 | 7.0 | 2.21 | 0.16 |
| | 2008 | | 145 | 2.87 | 0.24 | 8.5 | 2.50 | 0.10 |
| | 2009 | | 145 | 3.53 | 0.15 | 4.2 | 1.27 | 0.12 |
| | 2010 | | 143 | 1.58 | 0.41 | 26.0 | 6.97 | 0.06 |
| | 2011 | | 137 | 1.00 | 0.12 | 12.0 | 3.00 | 0.04 |
| T-N | 2006 | 尿素 | 158 | 14.60 | 0.13 | 0.9 | 0.33 | 0.38 |
| | 2007 | 有機質肥料 | 145 | 8.74 | 0.07 | 0.8 | 0.26 | 0.25 |
| | 2010 | 尿素 | 140 | 14.11 | 0.11 | 0.8 | 0.30 | 0.38 |
| A-N | 2006 | 硫酸アンモニア,りん酸アンモニア | 150 | 11.46 | 0.10 | 0.9 | 0.33 | 0.32 |
| | 2007 | 硫酸アンモニア | 143 | 6.20 | 0.09 | 1.4 | 0.47 | 0.19 |
| | 2008 | 硫酸アンモニア,りん酸アンモニア | 147 | 12.56 | 0.16 | 1.2 | 0.45 | 0.34 |
| | 2009 | 硝酸アンモニア,硝酸アンモニア石灰肥料 | 144 | 5.56 | 0.07 | 1.3 | 0.43 | 0.17 |
| | 2010 | 硫酸アンモニア,りん酸アンモニア | 128 | 11.53 | 0.18 | 1.6 | 0.56 | 0.32 |
| | 2011 | 硫酸アンモニア,りん酸アンモニア | 138 | 13.49 | 0.18 | 1.3 | 0.49 | 0.36 |
| | 2012 | | 130 | 2.39 | 0.04 | 1.9 | 0.53 | 0.08 |
| N-N | 2009 | 硝酸アンモニア,硝酸アンモニア石灰肥料 | 123 | 3.62 | 0.11 | 3.2 | 0.96 | 0.12 |
| | 2012 | | 115 | 2.17 | 0.10 | 4.8 | 1.34 | 0.08 |
| T-P ₂ O ₅ | 2007 | 有機質肥料 | 140 | 10.35 | 0.10 | 0.9 | 0.33 | 0.29 |
| C-P ₂ O ₅ | 2007 | りん酸アンモニア | 143 | 9.81 | 0.13 | 1.3 | 0.47 | 0.28 |
| | 2008 | りん酸アンモニア | 146 | 15.82 | 0.13 | 0.8 | 0.32 | 0.40 |
| | 2010 | りん酸アンモニア | 141 | 14.59 | 0.18 | 1.2 | 0.47 | 0.38 |
| S-P ₂ O ₅ | 2006 | 過りん酸石灰,りん酸アンモニア | 144 | 10.88 | 0.11 | 1.0 | 0.37 | 0.30 |
| | 2009 | 過りん酸石灰 | 125 | 6.37 | 0.12 | 1.9 | 0.62 | 0.19 |
| | 2011 | りん酸アンモニア,過りん酸石灰 | 114 | 17.44 | 0.22 | 1.3 | 0.53 | 0.42 |
| W-P ₂ O ₅ | 2006 | 過りん酸石灰,りん酸アンモニア | 157 | 9.02 | 0.12 | 1.3 | 0.46 | 0.26 |
| | 2007 | りん酸アンモニア | 143 | 7.02 | 0.23 | 3.2 | 1.08 | 0.21 |
| | 2008 | りん酸アンモニア | 149 | 9.16 | 0.24 | 2.7 | 0.93 | 0.26 |
| | 2009 | 過りん酸石灰 | 144 | 4.57 | 0.08 | 1.8 | 0.56 | 0.15 |
| | 2010 | りん酸アンモニア | 144 | 11.56 | 0.52 | 4.5 | 1.63 | 0.32 |
| | 2011 | りん酸アンモニア,過りん酸石灰 | 133 | 14.51 | 0.19 | 1.3 | 0.50 | 0.38 |
| | 2012 | | 131 | 2.86 | 0.06 | 2.1 | 0.61 | 0.10 |
| C-K ₂ O | 2011 | 硫酸加里 | 122 | 10.41 | 0.23 | 2.2 | 0.79 | 0.29 |
| W-K ₂ O | 2006 | 塩化加里 | 156 | 12.38 | 0.22 | 1.8 | 0.64 | 0.34 |
| | 2007 | 硫酸加里 | 145 | 8.43 | 0.15 | 1.8 | 0.61 | 0.24 |
| | 2008 | 塩化加里 | 147 | 11.39 | 0.15 | 1.3 | 0.47 | 0.32 |
| | 2009 | 硫酸加里 | 145 | 8.35 | 0.13 | 1.5 | 0.52 | 0.24 |
| | 2010 | 塩化加里 | 142 | 14.72 | 0.17 | 1.2 | 0.44 | 0.38 |
| | 2011 | 塩化加里 | 132 | 10.17 | 0.17 | 1.7 | 0.59 | 0.29 |
| | 2012 | | 131 | 2.43 | 0.06 | 2.4 | 0.68 | 0.09 |

1) 全体の中央値

2) 標準化された四分位範囲

3) ロバスト法から求めた相対標準偏差

4) ロバスト法から求めたHorRat値

5) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

6) T-As及びT-Cdはmg/kg, その他の成分は%

表5-1 (続き)

| 試験項目 | 実施年 | 試験項目に由来する主な原料名 | 参加試験室数 | Median ¹⁾ (%,mg/kg) ⁶⁾ | NIQR ²⁾ (%,mg/kg) | RSD _{rob} ³⁾ (%) | HorRat _{rob} ⁴⁾ | HSD ⁵⁾ (%,mg/kg) |
|---------------------------------|------|----------------|--------|---|---------------------------------|---|-------------------------------------|--------------------------------|
| C-MgO | 2007 | 副産苦土肥料 | 137 | 3.41 | 0.07 | 2.2 | 0.65 | 0.11 |
| | 2008 | 水酸化苦土肥料 | 142 | 4.62 | 0.12 | 2.5 | 0.80 | 0.15 |
| | 2010 | 副産苦土肥料 | 137 | 3.11 | 0.07 | 2.4 | 0.71 | 0.10 |
| | 2011 | 水酸化苦土肥料 | 128 | 2.48 | 0.07 | 2.8 | 0.81 | 0.09 |
| W-MgO | 2011 | 水酸化苦土肥料 | 119 | 1.94 | 0.09 | 4.6 | 1.28 | 0.07 |
| | 2012 | | 116 | 1.68 | 0.05 | 3.1 | 0.83 | 0.06 |
| C-MnO | 2009 | 熔成微量元素複合肥料 | 126 | 0.54 | 0.02 | 3.6 | 0.83 | 0.02 |
| W-MnO | 2012 | | 112 | 1.25 | 0.03 | 2.4 | 0.61 | 0.05 |
| C-B ₂ O ₂ | 2009 | 熔成微量元素複合肥料 | 120 | 0.28 | 0.02 | 5.6 | 1.16 | 0.01 |
| W-B ₂ O ₃ | 2006 | ほう酸塩肥料 | 132 | 0.40 | 0.02 | 4.2 | 0.91 | 0.02 |
| | 2008 | ほう酸塩肥料 | 119 | 0.26 | 0.01 | 2.9 | 0.58 | 0.01 |
| | 2010 | ほう酸塩肥料 | 116 | 0.29 | 0.01 | 3.4 | 0.70 | 0.01 |
| | 2012 | | 103 | 0.240 | 0.009 | 3.6 | 0.72 | 0.012 |
| Fe | 2012 | | 86 | 0.240 | 0.013 | 5.4 | 1.09 | 0.012 |
| Cu | 2012 | | 88 | 0.0545 | 0.0014 | 2.6 | 0.42 | 0.0034 |
| Zn | 2012 | | 87 | 0.0595 | 0.0029 | 4.8 | 0.78 | 0.0036 |
| Mo | 2012 | | 52 | 0.210 | 0.010 | 4.7 | 0.92 | 0.011 |
| As | 2006 | | 84 | 1.89 | 0.19 | 10.1 | 0.70 | 0.27 |
| | 2007 | | 68 | 3.84 | 0.38 | 9.8 | 0.75 | 0.50 |
| | 2008 | | 65 | 4.14 | 0.41 | 9.8 | 0.76 | 0.53 |
| | 2009 | | 59 | 4.31 | 0.60 | 13.9 | 1.09 | 0.55 |
| | 2010 | | 61 | 3.62 | 0.36 | 9.8 | 0.75 | 0.48 |
| | 2011 | | 52 | 4.74 | 0.61 | 12.9 | 1.02 | 0.60 |
| Cd | 2006 | | 95 | 1.26 | 0.11 | 9.1 | 0.59 | 0.19 |
| | 2007 | | 85 | 1.24 | 0.12 | 9.6 | 0.62 | 0.19 |
| | 2008 | | 86 | 2.60 | 0.15 | 5.9 | 0.43 | 0.36 |
| | 2009 | | 73 | 0.47 | 0.08 | 17.3 | 0.97 | 0.08 |
| | 2010 | | 79 | 1.22 | 0.08 | 6.7 | 0.43 | 0.19 |
| | 2011 | | 74 | 2.03 | 0.09 | 4.4 | 0.31 | 0.29 |

表5-2 鉍さいけい酸質肥料における2006～2012年度の共同試験成績の統計量

| 試験項目 | 実施年 | 試験項目に由来するの主な原料名 | 参加試験室数 | Median ¹⁾ (%) | NIQR ²⁾ (%) | RSD _{rob} ³⁾ (%) | HorRat _{rob} ⁴⁾ | HSD ⁵⁾ (%) |
|--------------------|------|-----------------|--------|-----------------------------|---------------------------|---|-------------------------------------|--------------------------|
| S-SiO ₂ | 2006 | | 66 | 33.92 | 0.60 | 1.8 | 1.03 | 0.58 |
| | 2007 | | 67 | 28.25 | 0.87 | 3.1 | 1.63 | 0.53 |
| | 2008 | | 68 | 33.35 | 0.49 | 1.5 | 0.85 | 0.58 |
| | 2009 | | 69 | 32.67 | 0.62 | 1.9 | 1.09 | 0.57 |
| | 2010 | | 67 | 33.52 | 0.57 | 1.7 | 0.98 | 0.58 |
| | 2011 | | 59 | 30.69 | 0.75 | 2.4 | 1.35 | 0.55 |
| | 2012 | | 67 | 36.15 | 0.48 | 1.3 | 0.80 | 0.60 |
| AL | 2006 | | 75 | 50.56 | 0.64 | 1.3 | 0.91 | 0.71 |
| | 2007 | | 83 | 48.70 | 0.76 | 1.6 | 1.08 | 0.70 |
| | 2008 | | 86 | 50.90 | 0.71 | 1.4 | 0.99 | 0.71 |
| | 2009 | | 85 | 39.03 | 0.92 | 2.4 | 1.47 | 0.62 |
| | 2010 | | 85 | 49.26 | 0.80 | 1.6 | 1.14 | 0.70 |
| | 2011 | | 76 | 49.48 | 0.68 | 1.4 | 0.97 | 0.70 |
| | 2012 | | 77 | 49.95 | 0.71 | 1.4 | 1.00 | 0.71 |
| C-MgO | 2006 | | 78 | 6.18 | 0.13 | 2.0 | 0.67 | 0.19 |
| | 2007 | | 86 | 3.17 | 0.21 | 6.6 | 1.95 | 0.11 |
| | 2008 | | 89 | 5.80 | 0.14 | 2.4 | 0.79 | 0.18 |
| | 2009 | | 87 | 2.34 | 0.20 | 8.7 | 2.48 | 0.08 |
| | 2010 | | 88 | 5.42 | 0.11 | 2.1 | 0.67 | 0.17 |
| | 2011 | | 78 | 3.36 | 0.23 | 6.8 | 2.05 | 0.11 |
| | 2012 | | 81 | 6.77 | 0.19 | 2.8 | 0.94 | 0.20 |

1) 全体の中央値

2) 標準化された四分位範囲

3) ロバスト法から求めた相対標準偏差

4) ロバスト法から求めたHorRat値

5) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

表6 試験方法別の共同試験成績の統計量

| 試験項目 | 試験方法 | 報告試験室数 | Median ¹⁾ (%) | NIQR ²⁾ (%) | RSD _{rob} ³⁾ (%) | HorRat _{rob} ⁴⁾ | HSD ⁵⁾ (%) |
|---------------------------------|------------------|--------|-----------------------------|---------------------------|---|-------------------------------------|--------------------------|
| (液状複合肥料) | | | | | | | |
| A-N | 蒸留法 | 127 | 2.41 | 0.04 | 1.8 | 0.53 | 0.08 |
| N-N | デバルタ合金法 | 77 | 2.18 | 0.09 | 4.1 | 1.15 | 0.08 |
| | フェノール硫酸法 | 25 | 2.19 | 0.10 | 4.4 | 1.24 | 0.08 |
| W-P ₂ O ₅ | バナドモリブデン酸アンモニウム法 | 128 | 2.88 | 0.06 | 2.1 | 0.60 | 0.10 |
| W-K ₂ O | フレーム光度法 | 47 | 2.44 | 0.04 | 1.8 | 0.52 | 0.09 |
| | 原子吸光法 | 75 | 2.42 | 0.06 | 2.6 | 0.74 | 0.08 |
| W-MgO | 原子吸光法 | 104 | 1.69 | 0.04 | 2.6 | 0.71 | 0.06 |
| | ICP発光分光分析法 | 9 | 1.81 | 0.08 | 4.5 | 1.23 | 0.07 |
| W-MnO | 原子吸光法 | 99 | 1.23 | 0.03 | 2.7 | 0.70 | 0.05 |
| | ICP発光分光分析法 | 9 | 1.32 | 0.04 | 2.8 | 0.73 | 0.05 |
| W-B ₂ O ₃ | アゾメチン日法 | 92 | 0.240 | 0.008 | 3.2 | 0.64 | 0.012 |
| | ICP発光分光分析法 | 11 | 0.251 | 0.005 | 1.9 | 0.39 | 0.012 |
| Fe | 原子吸光法 | 71 | 0.243 | 0.013 | 5.5 | 1.11 | 0.012 |
| | ICP発光分光分析法 | 12 | 0.241 | 0.007 | 3.1 | 0.62 | 0.012 |
| Cu | 原子吸光法 | 76 | 0.0546 | 0.0014 | 2.5 | 0.41 | 0.0034 |
| | ICP発光分光分析法 | 12 | 0.0550 | 0.0016 | 2.9 | 0.46 | 0.0034 |
| Zn | 原子吸光法 | 75 | 0.0586 | 0.0022 | 3.7 | 0.61 | 0.0036 |
| | ICP発光分光分析法 | 12 | 0.0607 | 0.0045 | 7.5 | 1.23 | 0.0037 |
| Mo | チオシアン酸ナトリウム法 | 32 | 0.212 | 0.009 | 4.2 | 0.83 | 0.011 |
| | ICP発光分光分析法 | 15 | 0.213 | 0.010 | 4.6 | 0.91 | 0.011 |
| (鉱さいけい酸質肥料) | | | | | | | |
| S-SiO ₂ | ふっ化カリウム法 | 46 | 35.96 | 0.37 | 1.0 | 0.61 | 0.60 |
| | 過塩素酸法 | 13 | 36.09 | 0.63 | 1.7 | 1.05 | 0.60 |
| AL | EDTA法 | 17 | 49.76 | 0.35 | 0.7 | 0.49 | 0.71 |
| | 原子吸光法 | 56 | 50.07 | 0.72 | 1.4 | 1.02 | 0.71 |
| S-CaO | 原子吸光法 | 57 | 40.53 | 0.60 | 1.5 | 0.95 | 0.64 |
| S-MgO | 原子吸光法 | 56 | 6.86 | 0.14 | 2.0 | 0.66 | 0.21 |
| C-MgO | 原子吸光法 | 69 | 6.59 | 0.18 | 2.7 | 0.90 | 0.20 |

1) 全体の中央値

4) ロバスト法から求めたHorRat値

2) 標準化された四分位範囲

5) Horwitz修正式より得られた平均的な室間再現標準偏差

3) ロバスト法から求めた相対標準偏差

3) 試験成績の傾向

同一の試験室において報告された異なる試験成績のzスコアの関係を図2-1及び2-2に示した。図2-1については、同一の共同試験用試料について同様の抽出方法で異なる成分、図2-2については、同一の共同試験用試料について異なる抽出方法で同一の成分である。

更に、zスコアが同じ値となる点線を書き加えた。この直線に平行方向のプロットは同様の抽出方法又は同一の成分の測定方法において系統的な偏りの要因があると考えられる。

なお、2)及び3)を参考に「4) 成分別の試験成績の評価」で各成分別の試験成績を評価することとする。

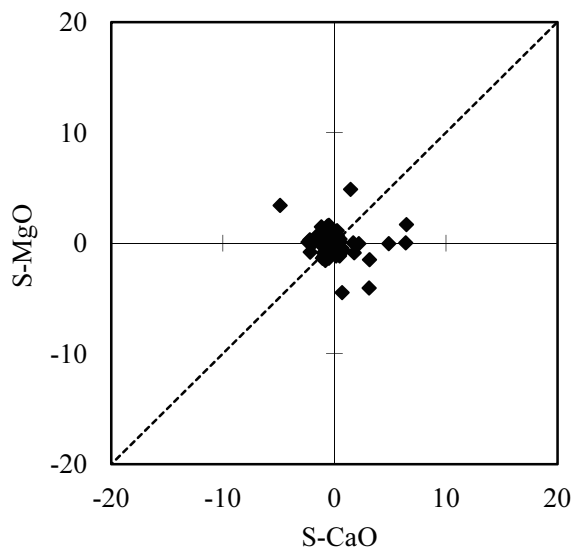


図2-1 鉍さいけい酸質肥料中の
S-MgO-S-CaOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
----- 線形 (zスコアが同じ値を示す直線)

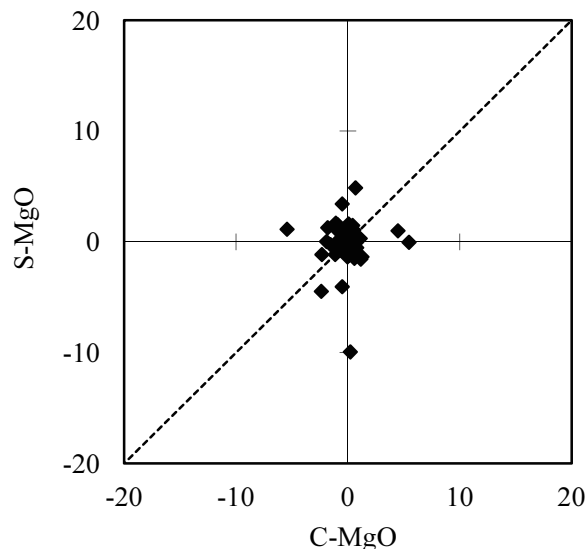


図2-2 鉍さいけい酸質肥料中の
C-MgO-S-MgOのzスコアの関係

◆ 同一試験室におけるzスコアのプロット
----- 線形 (zスコアが同じ値を示す直線)

4) 成分別の試験成績の評価

(1) 液状複合肥料中のアンモニア性窒素 (A-N)

参加 130 試験室のうち、120 試験室が蒸留法、8 試験室が自動分析装置、インドフェノール法及びイオンクロマト測定法を用いた試験室が各1試験室存在した。試験成績の度数分布を図 3-1 に示す。平均値 2.41 %と Median 2.39 %はほぼ一致し、「満足」と評価された試験室は全体の 78 %であり、液状複合肥料の試験項目の中で最も低い値となった。NIQR 0.04 %は、HSD 0.08 %より小さい値であったが、2006～2011 年度の NIQR 0.07 %～0.18 %及び HSD 0.17 %～0.36 %と比較し HSD は低い値であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 12 %にあたる 16 試験室が該当し、蒸留法が 6 試験室、自動分析装置、インドフェノール法及びイオンクロマト法が各 1 試験室であった。「不満足」の要因として、公定法に定めのない方法を用いたこと、蒸留法では蒸留操作の初期でアンモニアの流出が多かった等が考えられる。

(2) 液状複合肥料中の硝酸性窒素 (N-N)

参加 115 試験室のうち、6 試験室が還元鉄法、77 試験室がデバルダ合金法、25 試験室がフェノール硫酸法、2 試験室がイオンクロマト測定法、その他の方法を用いた試験室が 5 試験室存在した。試験成績の度数分布を図 3-2 に示す。平均値 2.16 %と Median 2.17 %はほぼ一致し、「満足」と評価された試験室は全体の 85 %であった。NIQR 0.10 %は、HSD 0.08 %より大きい値であった。2009 年度の NIQR 0.11 %及び HSD 0.12 %より低い値であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 10 %にあたる 11 試験室が該当し、デバルダ合金法が 6 試験室、フェノール硫酸法が 2 試験室、イオンクロマト測定法が 1 試験室、その他の方法が 2 試験室であった。「不満足」の要因として、公定法に定めのない方法を用いたこと、デバルダ合金法では蒸留操作での突沸等による操作ミス、フェノール硫酸法では、蒸発皿での乾固が不十分であったこと等が考えられる。

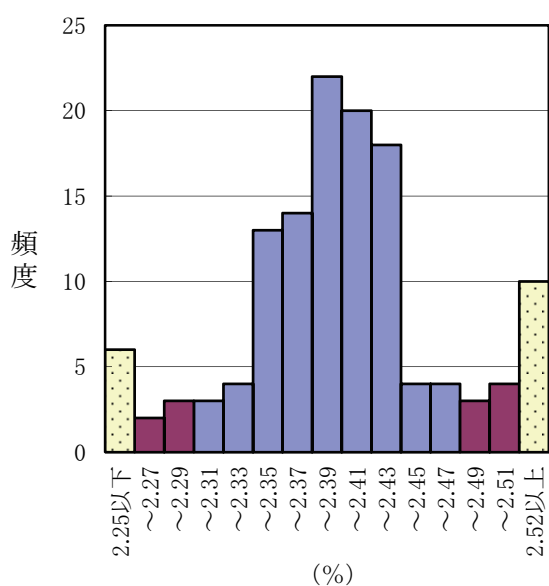


図3-1 液状複合肥料中のアンモニア性窒素の分析成績

■満足 ■疑わしい ■不満足

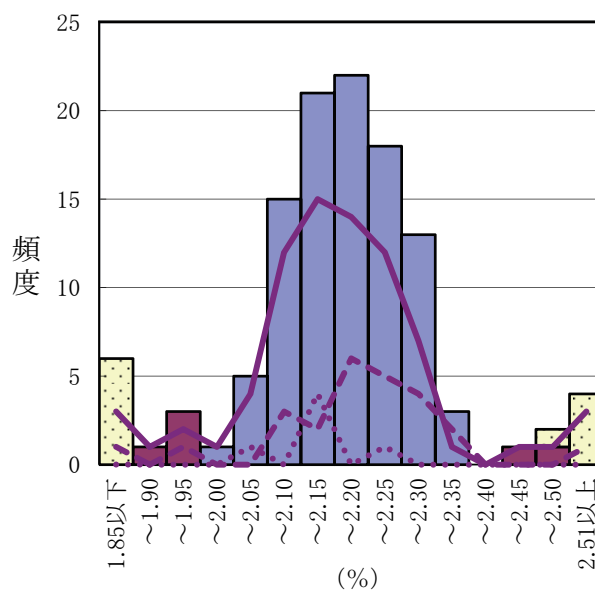


図3-2 液状複合肥料中の硝酸性窒素の分析成績

■満足 ■疑わしい ■不満足
 ●●●●還元鉄法
 ————デバルタ合金
 - - - -フェノール硫酸

(3) 液状複合肥料中の水溶性りん酸(W-P₂O₅)

参加 131 試験室のうち、128 試験室がバナドモリブデン酸アンモニウム法、2 試験室が ICP 発光分光分析法、1 試験室が硫酸モリブデン法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-3 に示す。平均値 2.90 %と Median 2.86 %であり、「満足」と評価された試験室は全体の 85 %であった。NIQR 0.06 %は、HSD 0.10 %より小さい値であり、2006~2011 年度の NIQR 0.08 %~0.52 %及び HSD 0.15 %~0.38 %と比較して NIQR , HSD 共に低い値を示した。「不満足」と評価された試験室は全体の 9 %にあたる 12 試験室が該当し、バナドモリブデン酸アンモニウム法が 11 試験室、ICP 発光分光分析法が 1 試験室によるものであった。

(4) 液状複合肥料中の水溶性加里(W-K₂O)

参加 131 試験室のうち、75 試験室が原子吸光法、47 試験室がフレイム光度法、2 試験室がテトラフェニルホウ酸ナトリウム容量法、7 試験室が ICP 発光分光分析法であった。試験成績の度数分布を図 3-5 に示す。平均値 2.42 %と Median 2.43 %はほぼ一致し、「満足」と評価された試験室は全体の 85 %であった。NIQR 0.06 %は、HSD 0.09 %より小さい値であり、2006~2011 年度の NIQR 0.13 %~0.22 %及び HSD 0.24 %~0.38 % と比較して共に低い値であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 12 %にあたる 16 試験室が該当し、内訳は原子吸光法が 11 試験室、フレイム光度法が 1 試験室、そして ICP 発光分光分析法が 4 試験室であった。ICP 発光分光分析法で分析を行った試験室が 7 試験室あったが 4 試験室が「不満足」であり、高い割合となった。

原子吸光法及びフレイム光度法の Median は、10.20 %及び 10.13 %とほぼ一致し、方法間の平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に 5 %の水準で有意な差は認められなかった。

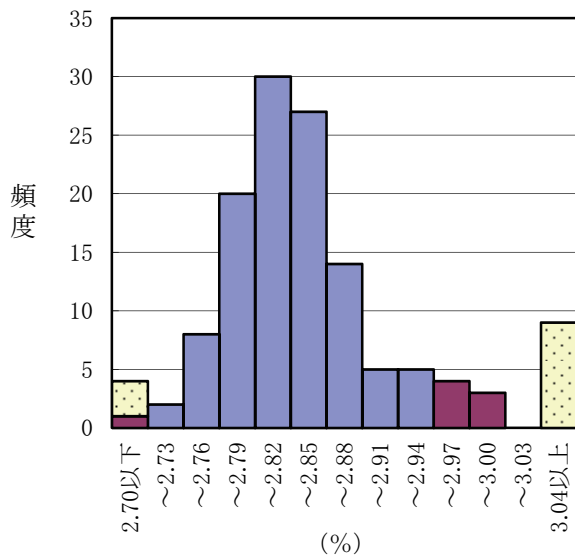


図3-3 液状複合肥料中の水溶性りん酸の分析成績

■満足 ■疑わしい ■不満足

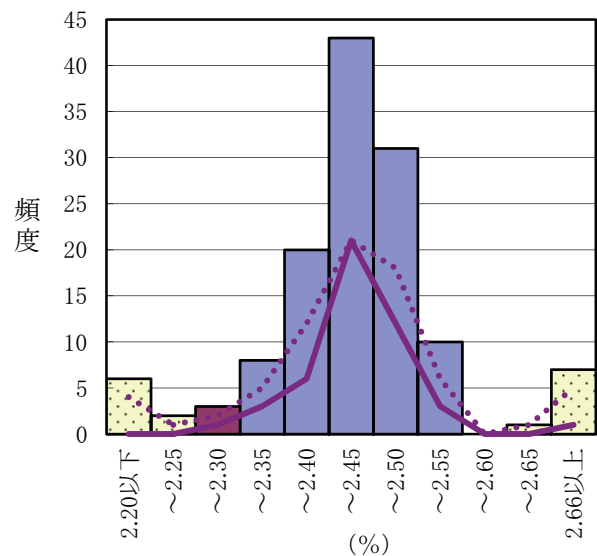


図3-4 液状複合肥料中の水溶性加里の分析成績

■満足 ■疑わしい
■不満足 — フレーム法
●●●●● 原子吸光法

(5) 液状複合肥料中の水溶性苦土(W-MgO)

参加 116 試験室のうち、104 試験室が原子吸光法、3 試験室が EDTA 法、9 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図3-5に示す。平均値 1.71 %とMedian 1.68 %はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 85 %であった。NIQR 0.05 %は HSD 0.06 %とほぼ一致し 2011 年度の NIQR 0.09 %は HSD 0.07 %と比較し NIQR が低い値となった。「不満足」と評価された試験室は全体の 8 %にあたる 9 試験室が該当し、内訳は原子吸光法が 7 試験室、EDTA 法及び ICP 発光分光分析法が各 1 試験室であった。原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった。

(6) 液状複合肥料中の水溶性マンガン(W-MnO)

参加 112 試験室のうち、99 試験室が原子吸光法、4 試験室が過よ素酸カリウム法、9 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図3-6に示す。平均値 1.24 %とMedian 1.25 %はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 83 %であった。NIQR 0.03 %は HSD 0.05 %と比較し小さい値となった。「不満足」と評価された試験室は全体の 12 %にあたる 13 試験室が該当し、内訳は原子吸光法が 10 試験室、過よ素酸カリウム法が 1 試験室、ICP 発光分光分析法が 2 試験室であった。原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった。

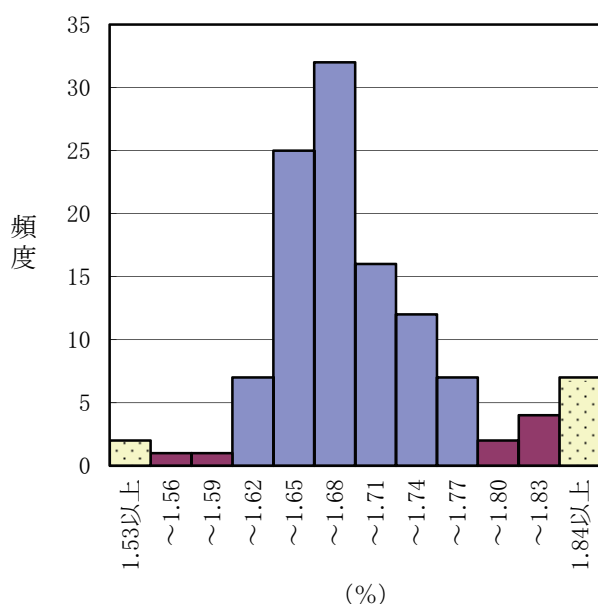


図3-5 液状複合肥料中の水溶性苦土の分析成績

■満足 ■疑わしい □不満足

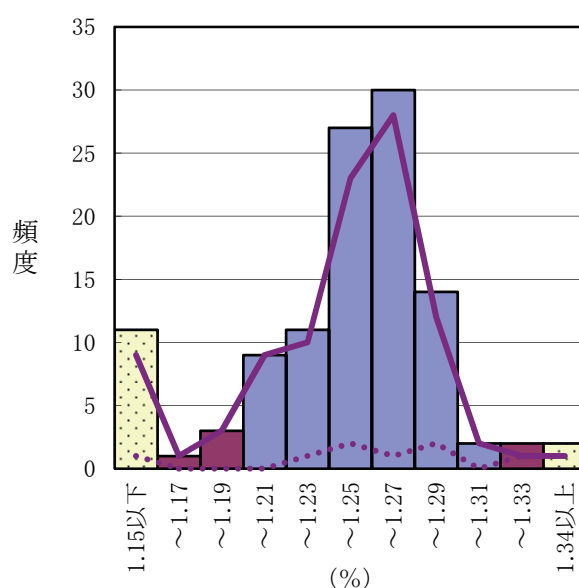


図3-6 液状複合肥料中の水溶性マンガン分析成績

■満足 ■疑わしい
 □不満足 ■原子吸光法
 ●●●● ICP-AES法

(7) 液状複合肥料中の水溶性ほう素(W- B₂O₃)

参加 103 試験室のうち、92 試験室がアゾメチン H 法、11 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-7 に示す。平均値 0.241 %と Median 0.240 %はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 86 %であった。NIQR 0.009 %は HSD 0.012 %と比較し小さい値となった。2006~2011 年度の NIQR 0.01 %~0.02 %及び HSD 0.01 %~0.02 % と比較して同様の値であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 7 %にあたる 7 試験室が該当し、内訳はアゾメチン H 法が 6 試験室、ICP 発光分光分析法が 1 試験室であった。アゾメチン H 法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった。

(8) 液状複合肥料中の鉄(Fe)

参加 86 試験室のうち、71 試験室が原子吸光法、3 試験室がフェナントロリン法、12 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-8 に示す。平均値 0.242 %と Median 0.240 %はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 79 %であった。NIQR 0.013 %は HSD 0.012 %とほぼ一致した。「不満足」と評価された試験室は全体の 13 %にあたる 11 試験室が該当し、内訳は原子吸光法が 9 試験室、ICP 発光分光分析法が 2 試験室であった。原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった。

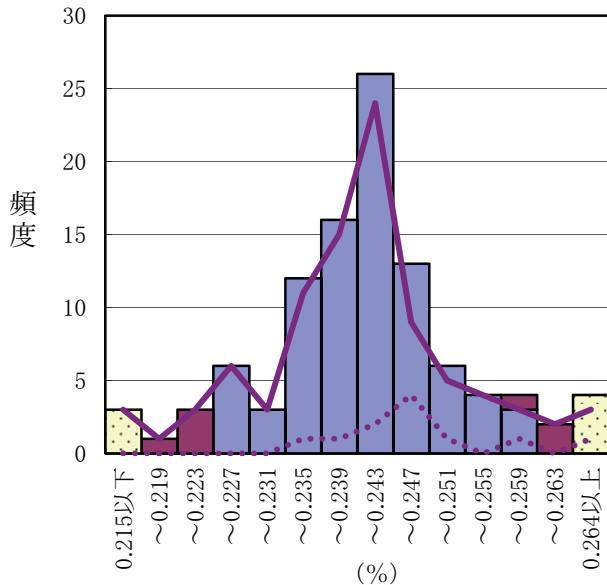


図3-7 液状複合肥料中の水溶性ほう素の分析成績

満足
 疑わしい
 不満足
 アゾメチンH法
 ICP-AES法

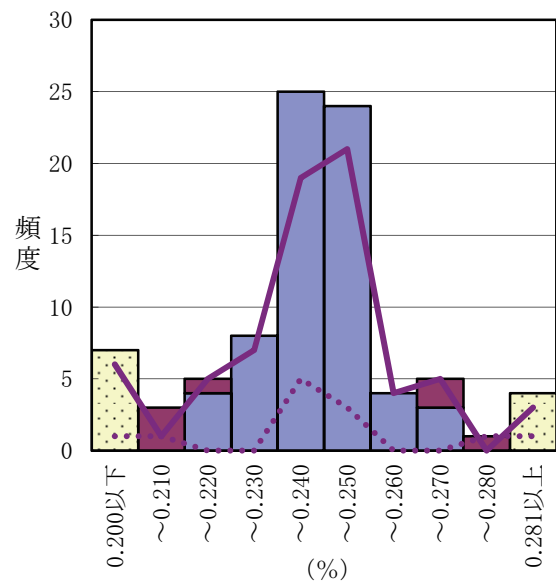


図3-8 液状複合肥料中の鉄の分析成績

満足
 疑わしい
 不満足
 原子吸光法
 ICP-AES法

(9) 液状複合肥料中の銅(Cu)

参加 88 試験室のうち、76 試験室が原子吸光法、12 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-9 に示す。平均値 0.0546 %と Median 0.0545 %はほぼ一致し「満足」と評価された試験室は全体の 81 %であった。NIQR 0.013 %は HSD 0.012 %とほぼ一致した。「不満足」と評価された試験室は全体の 15 %にあたる 13 試験室が該当し、内訳は原子吸光法が 10 試験室、ICP 発光分光分析法が 3 試験室であった。原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった。

(10) 液状複合肥料中の亜鉛(Zn)

参加 87 試験室のうち、75 試験室が原子吸光法、12 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-10 に示す。平均値 0.0595 %と Median 0.0595 %は一致し「満足」と評価された試験室は全体の 83 %であった。NIQR 0.0029 %は HSD 0.0036 %であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 13 %にあたる 11 試験室が該当し、内訳は原子吸光法が 8 試験室、ICP 発光分光分析法が 3 試験室であった。原子吸光法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった。

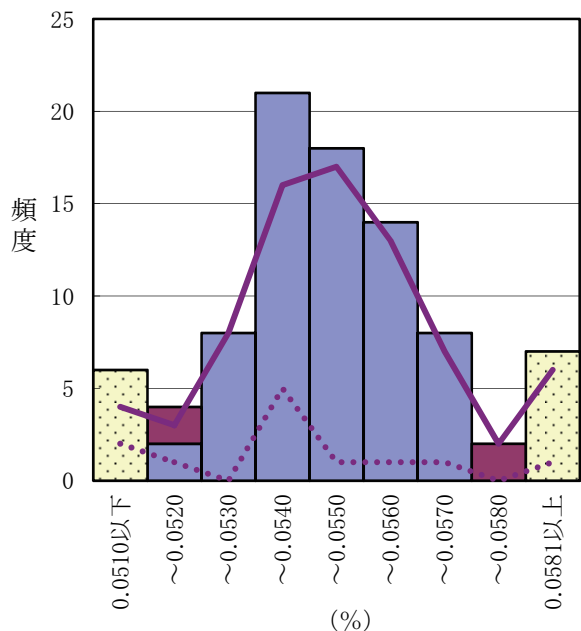


図3-9 液状複合肥料中の銅の分析成績

満足
 不満足
 原子吸光法
 ICP-AES法
 疑わしい

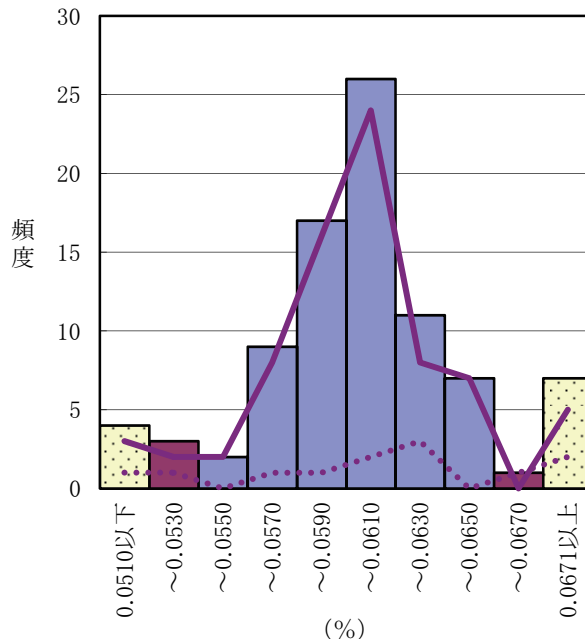


図3-10 液状複合肥料中の鉛の分析成績

満足
 不満足
 原子吸光法
 ICP-AES法
 疑わしい

(11) 液状複合肥料中のモリブデン(Mo)

参加 52 試験室のうち、32 試験室がチオシアン酸ナトリウム法、5 試験室が原子吸光法、15 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 3-11 に示す。平均値 0.210 %と Median 0.210 %は一致し「満足」と評価された試験室は全体の 87 %であり液状複合肥料の試験項目中で最も高い値となった。NIQR 0.0010 %は HSD 0.011 %であった。「不満足」と評価された試験室は全体の 13 %にあたる 7 試験室が該当し、内訳はチオシアン酸ナトリウム法が 5 試験室、原子吸光法が 1 試験室、ICP 発光分光分析法が 1 試験室であった。チオシアン酸ナトリウム法及び ICP 発光分光分析法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった。

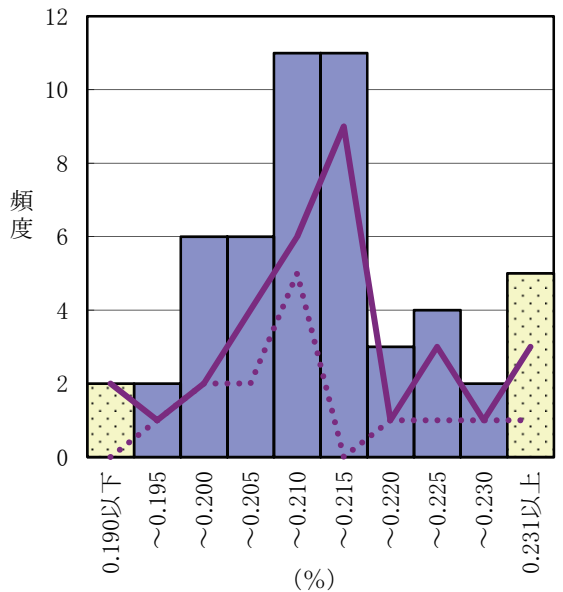


図11 液状複合肥料中のモリブデンの分析成績

■ 満足
■ 不満足
● ICP-AES法
— チオン酸ナトリウム法
— 疑わしい

(12) 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸(S-SiO₂)

参加 67 試験室のうち、46 試験室がフッ化カリウム法、13 試験室が過塩素酸法、塩酸法が 2 試験室及び ICP 発光分光分析法が 1 試験室であった。試験成績の度数分布を図 4-1 に示す。平均値 35.90 %と Median 36.15 %はやや剥離したが、「満足」と評価された試験室は全体の 89 %であった。NIQR 0.48 %は、HSD 0.60 %より小さい値であった。2006～2011 年度の NIQR 0.49 %～0.87 %及び HSD 0.53 %～0.58 %とほぼ変わらない値であった。「不満足」と評価された試験室は 6 試験室であり、内訳はフッ化カリウム法が 3 試験室、過塩素酸法、塩酸法及び ICP 発光分光分析法が各 1 試験室であった。

フッ化カリウム法及び過塩素酸法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった。

(13) 鉍さいけい酸質肥料中のアルカリ分(AL)

参加 77 試験室のうち、56 試験室が原子吸光法、17 試験室が EDTA 法、4 試験室が ICP 発光分光分析法を用いた。試験成績の度数分布を図 4-2 に示す。平均値 49.99 %と Median 49.95 %はほぼ一致しており、「満足」と評価された試験室は全体の 87 %であった。NIQR 0.71 %は、HSD 0.71 %と同じ値を示した。「不満足」と評価された試験室は全体 5 %にあたる 4 試験室が該当し、内訳は原子吸光法が 4 試験室であった。

原子吸光法及び EDTA 法による分析成績について平均値の差による検定を行ったところ、それぞれの平均値に有意水準 5 %で有意な差は認めなかった。

S-CaO の試験成績の報告を 59 試験室、S-MgO の試験成績の報告を 58 試験室から受けた。それらの試験成績の度数分布を図 4-3 及び図 4-4 に示す。S-CaO の平均値 40.59 %と Median 40.55 %はほぼ一致し、NIQR は 0.62 %であり、6 試験室が「不満足」という結果であった。一方、S-MgO の平均値 6.83 %と Median 6.86 %はほぼ一致し、NIQR は 0.14 %であり、5 試験室が「不満足」という評価であった。

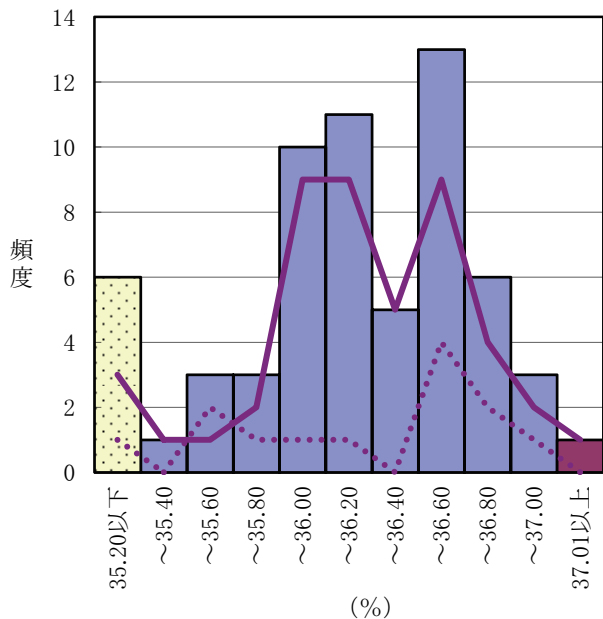


図4-1 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性けい酸の分析成績

満足
 不満足
 疑わしい
 過塩素酸法
 フッ化カルウム法

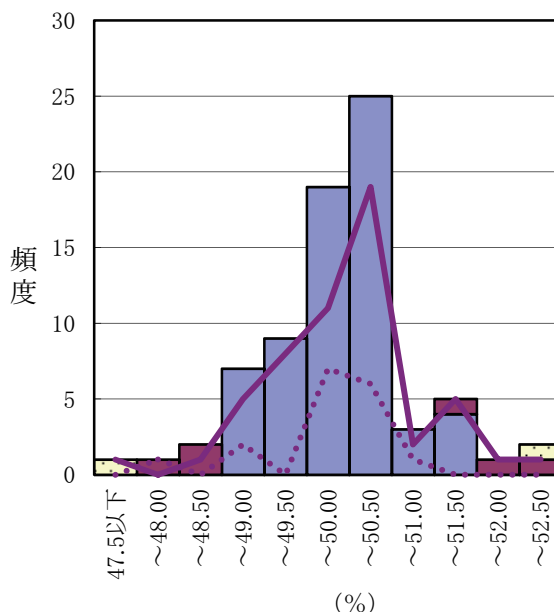


図4-2 鉍さいけい酸質肥料中のアルカリ分の分析成績

満足
 不満足
 疑わしい
 EDTA法
 原子吸光法

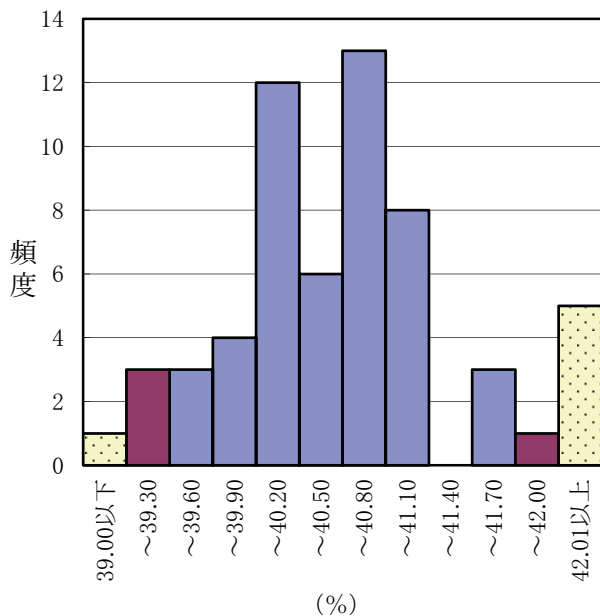


図4-3 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性石灰の分析成績

満足
 疑わしい
 不満足

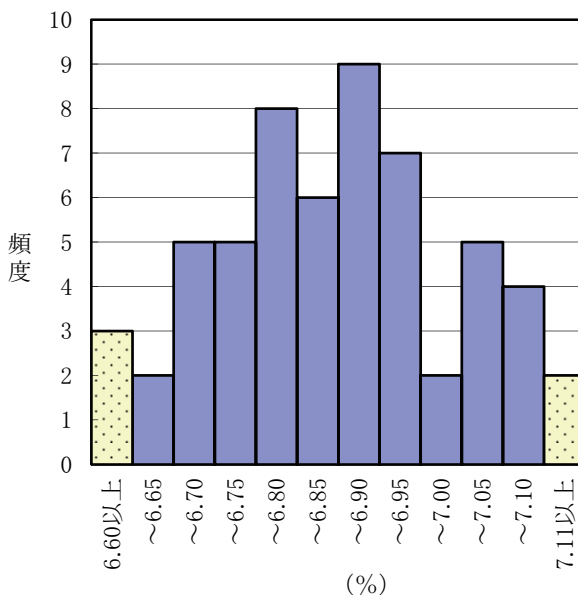


図4-4 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性苦土の分析成績

満足
 疑わしい
 不満足

(14) 鉍さいけい酸質肥料中の可溶性苦土(C-MgO)

参加 81 試験室のうち、69 試験室が原子吸光法、7 試験室が EDTA 法、5 試験室が ICP 発光分光分析法を

用いた。試験成績の度数分布を図4-5に示す。平均値6.55%とMedian 6.77%と乖離していた。「満足」と評価された試験室は全体の84%であった。NIQR 0.19%は、HSD 0.20%とほぼ同様の値となった。2006～2011年度のNIQR 0.11%～0.23%及びHSD 0.08%～0.19%と比較してほぼ同程度の値となった。「不満足」と評価された試験室は全体の11%にあたる9試験室が該当し、内訳は原子吸光法が7試験室、ICP発光分光分析法及びEDTA法が各1試験室であった。

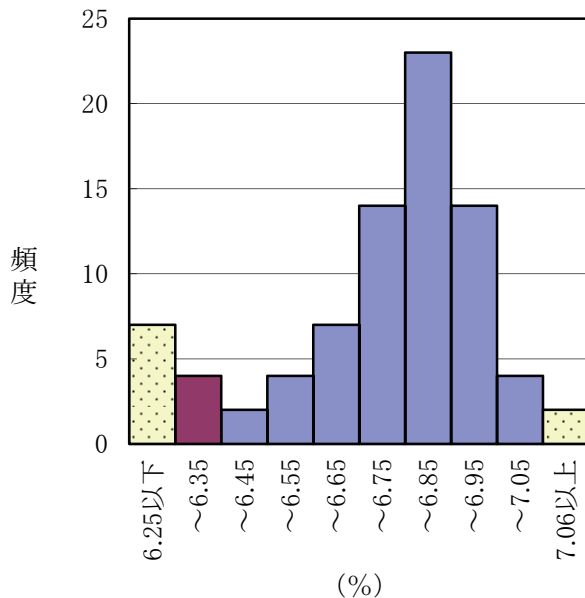


図4-5 鉍さいけい酸質肥料中のく溶性苦土の分析成績

■満足 ■疑わしい □不満足

6. 総 括

2012年度外部精度管理のための共同試験は、液状複合肥料11成分に136試験室、鉍さいけい酸質肥料3成分に84試験室が参加した。各試験成績をロバスト法による z スコアを用いて評価したところ、「満足($|z| \leq 2$)」と評価された試験室の割合は78%～89%、「不満足($|z| \geq 3$)」と評価された試験室の割合は5%～13%であった。全体的に平均値Meanは、中央値Medianとほぼ一致していた。複数の試験法による報告で9試験室以上が採用した方法間について平均値の差を検定したところ、解析した全ての成分で方法間に有意な差は認められなかった。

「不満足」となった成分は液状複合肥料の効果発現促進材である鉄、銅、亜鉛及びモリブデンで割合が高くなっており、分析経験の不足に起因するものと思われる。また、ICP発光分光分析法については、成分によって「不満足」な測定値が出やすい傾向が認められた。

今回の結果から「不満足」となった要因として、試験者が分析方法に熟練していないことがあげられた。また、機器分析を行う際には検量線の直線性に注意し、各標準液の確認、日頃から分析機器の管理に注意を払われない。

肥料分析は熟練を要する実験操作が多く、日々練度の向上に努める必要がある。更に危機管理の側面から内部管理分析を取り入れると、一層試験室の信頼性は高まると考えられる。

謝 辞

この共同試験を実施するにあたり、試料の準備・調製、均質性試験等多大なご協力を賜りました、ジェイカムアグリ株式会社 黒崎工場及びいなほ化工株式会社 富山工場の関係者各位に深く感謝致します。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料分析標準試料の配布申請手続き
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>>
- 3) ISO/IEC Guide 43-1 (1997): “Proficiency testing by interlaboratory comparisons—Part 1 : Development and operation of proficiency testing schemes” (JIS Q 0043-1 : 1998, 「試験所間比較による技能試験 第1部: 技能試験の開発及び運営」)
- 4) Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 5) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法 (1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
- 6) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 7) Thompson, M.: Recent Trend in Interlaboratory Precision at ppb and sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing, *Analyst*, **124**, 385~386 (2000)
- 8) Horwitz, W. Albert, R.: The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision, *J. AOAC Int.*, **89** (4), 1095~1109 (2006)
- 9) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2000)

Result of Proficiency Testing for Determination of Major Components and Harmful Elements of Ground Fertilizers Conducted in Fiscal Year 2012

Masato FUNATSU¹, Erina WATANABE², Shin ABE³, Sae SHIRAI⁴,
Shigeyuki INABA⁵, Keiji YAGI⁶, Yuji SHIRAI¹ and Masashi UWASAWA⁷

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

³ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

⁴ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center

⁵ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

⁶ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

⁷ Japan Fertilizer and Feed Inspection Association

A proficiency testing of analytical laboratories was conducted in fiscal year 2012, using reference materials of fluid mixed fertilizer and silicate slag fertilizer based on ISO/IEC Guide 43-1, "Proficiency testing by interlaboratory comparisons". ammonium nitrogen (A-N), Nitrate nitrogen (N-N), water-soluble phosphorus (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), water-soluble magnesium (W-MgO), water-soluble manganese (W-MnO), water-soluble boron (W-B₂O₃), Iron(Fe), copper (Cu), zinc (Zn), molybdenum (Mo) were analyzed using a fluid mixed fertilizer sample. Acid-soluble silicon (S-SiO₂), alkalinity (AL) and citric acid-soluble magnesium (C-MgO) were analyzed using a silicate slag fertilizer sample. Two homogenized samples were sent to the participants. From the 136 participants which received a fluid mixed fertilizer sample, 45~131 results were returned for each element. From the 84 participants which received a silicate slag fertilizer sample, 58~81 results were returned for each element. Data analysis was conducted according to the harmonized protocol for proficiency testing, revised cooperatively by the international standardizing organizations IUPAC, ISO, and AOAC International (2006). The ratios of the number of *z* scores between -2 and +2 to that of all scores were 78 %~89 % and the results from the satisfactory participants were normally distributed. The mean and median of all data mostly agreed except an element. The median-NIQR plots were distributed near Horwitz curve for each element, and the HorRat values were less than 2.0 for all elements. Where more than 9 results were returned, no significant distribution difference was observed between the different methods used.

Key words proficiency testing, fluid fertilizer, silicate slug fertilizer, harmful element, ISO/IEC Guide 43-1, ISO/IEC 17025, *z* score

(Research Report of Fertilizer, **6**, 61~83, 2013)

8 2012 年度 肥料認証標準物質の開発

— 汚泥発酵肥料 FAMIC-C-12 の調製 —

秋元里乃¹, 廣井利明¹, 八木寿治¹, 顯谷久典¹, 舟津正人¹, 矢野愛子¹,
坂東悦子², 藤田真理子¹, 白井裕治¹, 柴田政人¹

キーワード 認証標準物質, 汚泥発酵肥料, 主要な成分, 有害成分,
ISO/IEC Guide 31, ISO/IEC Guide 35, 共同試験

1. はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) では, 安全な肥料の流通を確保するために立入検査を実施し, その際に収去した肥料の主成分及び有害成分の分析を実施しているが, これらの分析を行うにあたり試験法の信頼性確保が求められている. 従前より, 肥料生産事業場の品質管理室, 生産事業場からの分析依頼を受けた分析機関, 肥料検査機関等の試験室では, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のため, 管理試料又は肥料認証標準物質¹⁾による内部品質管理が日常的に行われ, 更に共通試料を用いた試験室間の共同試験に参加して外部精度管理を実施している. 近年, 国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q17025:2005)²⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. その要求事項において「認証標準物質の定期的な使用」及び「試験所間の比較又は技能試験プログラムへの参加」が推奨されている.

現在 FAMIC においては, 肥料認証標準物質 A (高度化成肥料), 肥料認証標準物質 B (普通化成肥料) 及び肥料認証標準物質 C (汚泥発酵肥料) を調製・販売しており, これらの調製については国際的整合性確保のため ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)³⁾を参考に調製することとし, ISO Guide 31:2000 (JIS Q 0031:2002)⁴⁾を参考に認証書及びラベルを作成しているところである. 2012 年度は新たに肥料認証標準物質 C (FAMIC-C-12) を調製し, その主要な成分及び有害成分について 12 試験室で共同試験を実施し, 認証値の値付けをしたので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 基材の選定

肥料認証標準物質 C の基材として, 新潟県内の 18 カ所の下水処理場から発生する下水汚泥 (86 %) を主原料とし, 5 カ所の食品工業汚泥 (10 %) と動物質原料 (廃鶏) を混合し 45 日間発酵させ, 2012 年 4 月に生産された市販の汚泥発酵肥料を用いた. なお, 18 カ所中 16 カ所 (89 %) の下水処理場では排水中の懸濁物質を取り除くため, 凝集促進材として高分子凝集剤を使用しており, ポリ鉄を併用している処理場が 2 カ所, 石灰を使用している処理場が 1 カ所であった. 基材の選定にあたっては, 成分含有量として, 肥料公定規格で許容基準が定められている有害成分 (ヒ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, クロム, 鉛) が, 許容基準の 1/10 以上かつ許容基準以下の含有量であることを確認し選定した.

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (現) 札幌センター

2) 認証標準物質候補の調製

FAMIC 肥飼料安全検査部土壌改良資材試験室において、汚泥発酵肥料 90 kg を定温乾燥機により 65 °C で 24 時間乾燥し、放冷後、同肥料調整室において超遠心粉砕機で、目開き 500 μm のふるいを通過するまで粉砕した。基材選定時と成分が大きく変動していないことを確認後、よく混合し均質化し、約 120 g ずつ褐色ガラス瓶に小分けし、密封した。長期安定化をはかるため、日本照射サービス株式会社に依頼して γ 線照射殺菌を行い、肥料認証標準物質候補 C を調製した。

3) 試験項目

肥料取締法に基づき、汚泥肥料の保証票に記載することが規定されている主要な成分(窒素全量, りん酸全量, 加里全量, 銅全量, 亜鉛全量, 石灰全量)及び炭素窒素比の算出に必要な有機炭素, 並びに、汚泥肥料の公定規格で許容基準が定められている有害成分(ヒ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, クロム, 鉛), 及び水分の計 14 成分を試験項目とした。ただし、表 2 から表 7 の水分以外の 13 成分については、水分換算しない値を記載した。

表1 肥料認証標準物質候補Cの試験項目及び試験法

| 試験成分 | 試験項目 番号 ¹⁾ | 試験法の概要 | |
|--|--------------------------|----------------------|-------------------------|
| | | 試料溶液調製方法 | 測定方法 |
| 水分 (H ₂ O) | 3.1.a | — | 乾燥機による乾燥減量法 |
| | 3.1.b | — | 水分計による乾燥減量法 |
| 窒素全量 (T-N) | 4.1.1.a | ケルダール硫酸分解—蒸留 | 中和滴定法 |
| | 4.1.1.c | デバルダ合金硫酸分解—蒸留 | 中和滴定法 |
| | 4.1.1.b | — | 燃焼法 |
| りん酸全量 (T-P ₂ O ₅) | 4.2.1.a | ケルダール硫酸分解 灰化—王水分解 | バナドモリブデン酸 アンモニウム吸光度法 |
| 加里全量 (T-K ₂ O) | 4.3.1.a | 灰化—王水分解 | フレイム原子吸光法 又は フレイム光度法 |
| | | 炭化—塩酸煮沸 | フレイム原子吸光法 又は フレイム光度法 |
| 石灰全量 (T-CaO) | 4.5.1.a | 灰化—王水分解 | フレイム原子吸光法 |
| | | 炭化—塩酸煮沸 | フレイム原子吸光法 |
| 有機炭素 (O-C) | 4.11.1.a | 二クロム酸酸化 | 酸化還元滴定法 |
| 銅全量 (T-Cu) | 4.10.1 | 灰化—王水分解 | フレイム原子吸光法 |
| 亜鉛全量 (T-Zn) | 4.9.1.a | 灰化—王水分解 | フレイム原子吸光法 |
| ヒ素 (As) | 5.2.a | 硫酸—硝酸—過塩素酸分解 | 水素化物発生原子吸光法 |
| | 5.2.b | 硫酸—硝酸—過塩素酸分解 | ジエチルジチオカルバミン酸銀法 |
| カドミウム (Cd) | 5.3.a | 灰化—王水分解 | フレイム原子吸光法 |
| 水銀 (Hg) | 5.1.a | 硝酸—過塩素酸分解 | 還元気化原子吸光法 |
| ニッケル (Ni) | 5.4.a | 灰化—王水分解 | フレイム原子吸光法 |
| クロム (Cr) | 5.5.a | 灰化—王水分解 | フレイム原子吸光法 |
| 鉛 (Pb) | 5.6.a | 灰化—王水分解 | フレイム原子吸光法 |

1) 肥料等試験法の試験項目番号

4) 分析方法

各試験項目の試験法として肥料等試験法⁵⁾(表 1)を用いた。

5) 均質性確認試験

IUPAC の技能試験プロトコル⁶⁾の均質性試験に従い、認証標準物質候補 C(400 本)からランダムに 10 試料を抜き取って均質性確認試験用試料とし、それぞれの試験項目を 2 点併行で試験して均質性確認試験の成績とした。

6) 共同試験

本標準物質の認証値の設定のため、12 試験室による共同試験を実施した。各試験室に共同試験用試料を 2 本配付し、それぞれの試料について日を変えて 3 点併行で試験を実施した。報告値は有効数字 3 桁に丸めることとした。

・共同試験参加試験室(五十音順)

内藤環境管理 株式会社

株式会社 那須環境技術センター

財団法人 日本食品分析センター

財団法人 日本肥糧検定協会 関西支部

財団法人 日本肥糧検定協会 本部

独立行政法人 農林水産消費安全技術センター 神戸センター

独立行政法人 農林水産消費安全技術センター 札幌センター

独立行政法人 農林水産消費安全技術センター 仙台センター

独立行政法人 農林水産消費安全技術センター 名古屋センター

独立行政法人 農林水産消費安全技術センター 福岡センター

独立行政法人 農林水産消費安全技術センター 本部

平成理研 株式会社

3. 結果及び考察

1) 均質性確認試験

均質性確認試験の成績及びその成績の一元配置による分散分析等から得られた統計量を表 2 に示した。併行精度についてコクラン(Cochran)検定による外れ値はすべての成分において認められなかった。次に、一元配置による分散分析の F 検定(片側有意水準 5%)を実施した結果、すべての成分について試料間に有意な差は認められなかった⁶⁾。また、併行相対標準偏差は 0.48%~5.3%であった。

2) 共同試験成績

各試験室から報告された共同試験成績を表 3 に示した。各試験項目の試験成績について ISO 5725-2:1994 (JIS Z 8402-2:1999)⁷⁾を参考に統計処理することとし、試験成績の外れ値を検出するために、コクラン(Cochran)検定及びグラブズ(Grubbs)検定を実施し、有意水準 1%の外れ値を除外した。

なお、コクラン(Cochran)検定の繰返し数と平均値及び標準偏差等の関係を表 4 に示した。その結果、2 回目からのコクラン(Cochran)検定により外れ値を除外した際のこれらの統計量の変動が大きくなかったことから、コクラン(Cochran)検定での外れ値は 1 つまでとした。

表2 均質性確認試験の結果

| 試験項目 | 平均値 ¹⁾ | Cochranの 検定統計量 ²⁾ | F値 ³⁾⁴⁾ | RSD _R ⁵⁾ (%) | RSD _r ⁶⁾ (%) |
|--|-----------------------|---------------------------------|--------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 水分 (H ₂ O) | 12.1 % ⁷⁾ | 0.592 | 1.28 | 0.9 | 0.9 |
| 窒素全量 (T-N) | 4.71 % ⁷⁾ | 0.242 | 0.51 | 0.4 | 0.5 |
| りん酸全量 (T-P ₂ O ₅) | 8.65 % ⁷⁾ | 0.553 | 0.95 | 1.3 | 1.3 |
| 加里全量 (T-K ₂ O) | 0.624 % ⁷⁾ | 0.211 | 0.36 | 1.3 | 1.6 |
| 石灰全量 (T-CaO) | 5.56 % ⁷⁾ | 0.467 | 0.77 | 0.7 | 0.8 |
| 有機炭素 (O-C) | 21.3 % ⁷⁾ | 0.290 | 0.86 | 4.5 | 4.7 |
| 銅全量 (T-Cu) | 577 mg/kg | 0.312 | 0.78 | 1.9 | 2.0 |
| 亜鉛全量 (T-Zn) | 997 mg/kg | 0.271 | 1.44 | 0.6 | 0.6 |
| ヒ素 (As) | 19.9 mg/kg | 0.294 | 0.80 | 5.0 | 5.3 |
| カドミウム (Cd) | 1.85 mg/kg | 0.513 | 0.92 | 0.7 | 0.7 |
| 水銀 (Hg) | 0.52 mg/kg | 0.378 | 0.74 | 3.9 | 4.1 |
| ニッケル (Ni) | 74.3 mg/kg | 0.242 | 0.37 | 1.0 | 1.2 |
| クロム (Cr) | 81.7 mg/kg | 0.347 | 0.26 | 3.8 | 4.7 |
| 鉛 (Pb) | 34.9 mg/kg | 0.372 | 1.05 | 0.8 | 0.8 |

1) 10試料2点併行分析の総平均値

2) コ克蘭(Cochran)検定の棄却限界値($\alpha = 0.05$) = 0.602

3) 一元分散分析値により算出された分散比

4) F値の棄却限界値(9,10; $\alpha = 0.05$) = 3.025) 試料間の再現相対標準偏差 $RSD_R = (\sqrt{s_{sam}^2 + s_r^2}) / \bar{x} \times 100$

6) 併行相対標準偏差

7) 質量分率 (%)

表3 共同試験成績

(質量分率 %)

| 試験室 ¹⁾ | 水分 | | | | | | 窒素全量 | | | | | |
|-------------------|------|------|------|------|------|--------------------|------|------|------|------|------|--------------------|
| | A | 12.6 | 12.4 | 12.5 | 13.0 | 12.9 | 12.9 | 4.87 | 4.84 | 4.85 | 4.80 | 4.82 |
| B | 11.9 | 11.9 | 11.8 | 11.9 | 11.9 | 12.0 | 4.67 | 4.66 | 4.69 | 4.70 | 4.70 | 4.70 |
| C | 12.0 | 12.0 | 12.2 | 11.7 | 11.6 | 11.9 | 4.70 | 4.69 | 4.70 | 4.71 | 4.70 | 4.69 |
| D | 11.9 | 11.6 | 11.7 | 12.0 | 11.7 | 12.2 | 4.42 | 4.42 | 4.41 | 4.55 | 4.57 | 4.55 ²⁾ |
| E | 11.2 | 11.0 | 10.8 | 11.6 | 11.4 | 11.4 | 4.76 | 4.76 | 4.80 | 4.80 | 4.78 | 4.79 |
| F | 12.8 | 12.9 | 12.7 | 12.5 | 12.8 | 12.5 | 4.73 | 4.73 | 4.74 | 4.71 | 4.73 | 4.68 |
| G | 10.0 | 10.0 | 10.1 | 10.4 | 10.3 | 10.3 | 4.60 | 4.69 | 4.63 | 4.64 | 4.49 | 4.62 |
| H | 10.6 | 10.5 | 10.6 | 10.5 | 10.5 | 10.5 | 4.65 | 4.64 | 4.64 | 4.68 | 4.70 | 4.68 |
| I | 9.80 | 10.5 | 10.5 | 9.00 | 8.60 | 9.20 ²⁾ | 4.56 | 4.57 | 4.61 | 4.57 | 4.63 | 4.64 |
| J | 12.1 | 12.1 | 12.1 | 12.2 | 12.2 | 12.2 | 4.79 | 4.78 | 4.77 | 4.80 | 4.80 | 4.79 |
| K | 11.8 | 11.8 | 11.8 | 11.9 | 11.9 | 11.9 | 4.72 | 4.73 | 4.69 | 4.71 | 4.71 | 4.72 |
| L | 12.0 | 12.0 | 12.0 | 12.0 | 12.1 | 12.1 | 4.66 | 4.57 | 4.60 | 4.62 | 4.63 | 4.64 |

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) コ克蘭(Cochran)検定による外れ値

3) グラブス(Grubbs)検定による外れ値

4) 表1以外の方法で報告されたため、解析には用いなかった。

表3 (続き)

(質量分率 %)

| 試験室 ¹⁾ | りん酸全量 | | | | | | 加里全量 | | | | | |
|-------------------|-------|------|------|------|------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|---------------------|
| | A | 8.47 | 8.49 | 8.48 | 8.50 | 8.51 | 8.52 | 0.553 | 0.552 | 0.550 | 0.551 | 0.549 |
| B | 8.66 | 8.63 | 8.64 | 8.63 | 8.63 | 8.64 | 0.603 | 0.604 | 0.603 | 0.606 | 0.599 | 0.608 |
| C | 8.69 | 8.64 | 8.62 | 8.43 | 8.57 | 8.24 ²⁾ | 0.616 | 0.620 | 0.620 | 0.628 | 0.631 | 0.639 |
| D | 8.63 | 8.58 | 8.63 | 8.59 | 8.63 | 8.61 | 0.600 | 0.611 | 0.609 | 0.626 | 0.627 | 0.615 |
| E | 8.63 | 8.63 | 8.66 | 8.64 | 8.64 | 8.65 | 0.602 | 0.608 | 0.611 | 0.617 | 0.619 | 0.621 |
| F | 8.68 | 8.68 | 8.74 | 8.64 | 8.64 | 8.67 | 0.614 | 0.618 | 0.616 | 0.571 | 0.562 | 0.560 ²⁾ |
| G | 8.74 | 8.62 | 8.77 | 8.64 | 8.80 | 8.75 | 0.551 | 0.569 | 0.563 | 0.607 | 0.599 | 0.600 |
| H | 8.03 | 8.34 | 8.08 | 8.19 | 7.99 | 8.07 ³⁾ | 0.520 | 0.511 | 0.514 | 0.525 | 0.503 | 0.513 |
| I | 7.87 | 7.76 | 7.76 | 7.77 | 8.05 | 7.97 ³⁾ | 0.633 | 0.639 | 0.634 | 0.618 | 0.631 | 0.629 |
| J | 8.63 | 8.62 | 8.62 | 8.68 | 8.70 | 8.70 | 0.573 | 0.582 | 0.578 | 0.570 | 0.572 | 0.574 |
| K | 8.51 | 8.50 | 8.51 | 8.54 | 8.55 | 8.53 | 0.554 | 0.555 | 0.549 | 0.549 | 0.555 | 0.549 |
| L | 8.61 | 8.62 | 8.58 | 8.62 | 8.55 | 8.64 | 0.570 | 0.557 | 0.566 | 0.559 | 0.557 | 0.556 |

表3 (続き)

(質量分率 %)

| 試験室 ¹⁾ | 石灰全量 | | | | | | 有機炭素 | | | | | |
|-------------------|------|------|------|------|------|--------------------|------|------|------|------|------|------|
| | A | 5.97 | 5.96 | 6.01 | 5.81 | 5.77 | 5.84 | 20.4 | 20.5 | 20.5 | 20.4 | 20.0 |
| B | 5.50 | 5.48 | 5.52 | 5.25 | 5.25 | 5.27 | 19.7 | 20.1 | 19.6 | 19.9 | 19.7 | 19.7 |
| C | 5.60 | 5.54 | 5.58 | 5.79 | 5.80 | 5.80 | 20.8 | 20.8 | 20.6 | 20.0 | 19.9 | 20.1 |
| D | 5.89 | 5.86 | 5.88 | 5.91 | 5.89 | 5.88 | 21.0 | 21.0 | 20.6 | 21.3 | 21.3 | 21.3 |
| E | 5.99 | 5.99 | 6.00 | 6.07 | 6.04 | 5.99 | 20.3 | 20.6 | 20.3 | 20.7 | 20.4 | 20.8 |
| F | 5.82 | 5.79 | 5.87 | 5.78 | 5.79 | 5.82 | 19.6 | 20.6 | 20.3 | 20.0 | 20.5 | 20.4 |
| G | 4.66 | 4.76 | 4.84 | 4.27 | 4.40 | 4.34 ²⁾ | 19.7 | 20.3 | 18.9 | 20.9 | 20.5 | 20.2 |
| H | 5.27 | 5.05 | 5.23 | 5.38 | 5.40 | 5.45 | 21.1 | 19.8 | 20.1 | 20.2 | 19.4 | 19.5 |
| I | 5.76 | 5.61 | 6.00 | 5.94 | 5.79 | 6.15 | 20.7 | 20.9 | 20.3 | 19.7 | 19.4 | 19.3 |
| J | 5.95 | 5.99 | 6.03 | 5.98 | 6.07 | 5.95 | 19.2 | 19.8 | 19.7 | 19.5 | 19.7 | 19.4 |
| K | 6.18 | 6.20 | 6.21 | 6.25 | 6.24 | 6.20 | 20.8 | 20.8 | 20.8 | 20.8 | 20.8 | 20.7 |
| L | 6.06 | 6.00 | 6.03 | 6.00 | 6.05 | 6.02 | 19.5 | 19.3 | 19.2 | 19.0 | 19.1 | 19.0 |

表3 (続き)

(mg/kg)

| 試験室 ¹⁾ | 銅全量 | | | | | | 亜鉛全量 | | | | | |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-------------------|------|------|------|------|------|------|
| | A | 580 | 585 | 590 | 556 | 553 | 551 | 1010 | 1010 | 1010 | 959 | 963 |
| B | 601 | 597 | 591 | 600 | 588 | 594 | 965 | 968 | 967 | 963 | 964 | 962 |
| C | 571 | 567 | 573 | 555 | 555 | 559 | 989 | 1001 | 995 | 986 | 961 | 983 |
| D | 597 | 611 | 608 | 615 | 611 | 607 | 1010 | 1020 | 1010 | 1000 | 1020 | 1000 |
| E | 588 | 579 | 582 | 595 | 583 | 584 | 989 | 993 | 992 | 964 | 965 | 961 |
| F | 601 | 603 | 606 | 607 | 606 | 608 | 994 | 988 | 999 | 1010 | 1010 | 1020 |
| G | 563 | 575 | 560 | 572 | 553 | 551 | 1010 | 1010 | 1030 | 1010 | 1000 | 1010 |
| H | 575 | 575 | 569 | 584 | 571 | 580 | 1080 | 1040 | 1020 | 1040 | 1020 | 1010 |
| I | 552 | 511 | 534 | 559 | 577 | 568 ²⁾ | 1020 | 1000 | 990 | 1000 | 1030 | 1010 |
| J | 622 | 582 | 598 | 623 | 625 | 629 | 1010 | 976 | 1020 | 1020 | 1020 | 1020 |
| K | 556 | 554 | 551 | 555 | 557 | 554 | 915 | 920 | 921 | 921 | 920 | 922 |
| L | 584 | 583 | 577 | 591 | 593 | 592 | 995 | 994 | 994 | 990 | 987 | 993 |

表3 (続き)

(mg/kg)

| 試験室 ¹⁾ | ヒ素 | | | | | | カドミウム | | | | | |
|-------------------|------|------|------|------|------|--------------------|-------|------|------|------|------|--------------------|
| | A | 22.8 | 22.7 | 22.7 | 22.3 | 22.9 | 22.7 | 1.79 | 1.80 | 1.78 | 1.86 | 1.83 |
| B | 22.9 | 22.5 | 22.8 | 22.5 | 22.8 | 22.6 | 1.83 | 1.82 | 1.80 | 1.84 | 1.86 | 1.84 |
| C | 21.2 | 19.7 | 18.5 | 18.9 | 19.3 | 21.6 ²⁾ | 1.83 | 1.83 | 1.83 | 1.92 | 1.94 | 1.94 |
| D | 20.5 | 20.2 | 20.1 | 20.6 | 21.4 | 20.8 | 1.94 | 1.94 | 1.97 | 1.89 | 1.91 | 1.91 |
| E | 22.5 | 22.5 | 22.5 | 22.5 | 22.0 | 21.9 | 1.83 | 1.85 | 1.83 | 1.81 | 1.81 | 1.80 |
| F | 21.6 | 22.1 | 21.6 | 22.9 | 22.4 | 22.4 | 1.83 | 1.82 | 1.83 | 1.86 | 1.87 | 1.85 |
| G | — | — | — | — | — | — ⁴⁾ | — | — | — | — | — | — ⁴⁾ |
| H | 19.5 | 19.6 | 19.9 | 18.4 | 17.9 | 18.8 | 1.74 | 1.75 | 1.75 | 1.75 | 1.76 | 1.76 |
| I | 22.6 | 22.8 | 22.6 | 23.1 | 22.3 | 22.1 | 1.84 | 1.87 | 1.81 | 1.98 | 1.93 | 1.94 |
| J | 21.4 | 21.6 | 22.0 | 20.1 | 19.2 | 20.4 | 2.53 | 2.36 | 2.50 | 2.54 | 2.50 | 2.44 ³⁾ |
| K | 21.3 | 21.1 | 21.8 | 21.8 | 21.7 | 21.2 | 1.66 | 1.62 | 1.60 | 1.65 | 1.66 | 1.65 |
| L | 19.9 | 20.3 | 19.7 | 19.1 | 18.6 | 19.1 | 1.63 | 1.66 | 1.69 | 1.71 | 1.70 | 1.68 |

表3 (続き)

(mg/kg)

| 試験室 ¹⁾ | 水銀 | | | | | | ニッケル | | | | | |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|---------------------|-------|------|------|-------|-------|-----------------|
| | A | 0.506 | 0.490 | 0.495 | 0.463 | 0.461 | 0.456 | 76.3 | 76.1 | 76.4 | 76.00 | 77.90 |
| B | 0.500 | 0.515 | 0.510 | 0.490 | 0.466 | 0.490 | 73.8 | 74.5 | 72.7 | 75.40 | 76.70 | 75.80 |
| C | 0.527 | 0.487 | 0.509 | 0.491 | 0.487 | 0.492 | 76.0 | 76.1 | 75.6 | 73.83 | 73.74 | 73.82 |
| D | 0.489 | 0.470 | 0.516 | 0.458 | 0.492 | 0.478 | 76.9 | 78.8 | 76.9 | 76.50 | 76.70 | 76.00 |
| E | 0.461 | 0.452 | 0.497 | 0.467 | 0.468 | 0.456 | 73.2 | 73.2 | 73.4 | 74.60 | 73.90 | 74.30 |
| F | 0.549 | 0.578 | 0.560 | 0.559 | 0.570 | 0.541 ³⁾ | 69.0 | 69.5 | 68.4 | 69.70 | 68.70 | 69.50 |
| G | 0.469 | 0.489 | 0.488 | 0.484 | 0.456 | 0.430 | — | — | — | — | — | — ⁴⁾ |
| H | 0.453 | 0.451 | 0.443 | 0.438 | 0.468 | 0.489 | 67.2 | 66.7 | 67.7 | 69.20 | 69.00 | 68.30 |
| I | 0.456 | 0.488 | 0.498 | 0.535 | 0.507 | 0.495 | 75.5 | 75.1 | 74.3 | 70.90 | 74.30 | 72.50 |
| J | 0.506 | 0.560 | 0.500 | 0.492 | 0.474 | 0.465 | 82.6 | 81.0 | 85.1 | 80.00 | 79.80 | 79.20 |
| K | 0.454 | 0.459 | 0.457 | 0.470 | 0.471 | 0.466 | 64.8 | 65.4 | 65.0 | 65.40 | 65.00 | 64.80 |
| L | 0.478 | 0.469 | 0.492 | 0.477 | 0.498 | 0.467 | 73.7 | 75.1 | 72.6 | 74.20 | 73.50 | 74.80 |

表3 (続き)

(mg/kg)

| 試験室 ¹⁾ | クロム | | | | | | 鉛 | | | | | |
|-------------------|------|------|------|------|------|--------------------|------|------|------|------|------|--------------------|
| | A | 83.8 | 84.0 | 82.0 | 81.0 | 84.6 | 81.4 | 36.0 | 36.2 | 38.4 | 35.9 | 35.2 |
| B | 86.0 | 86.5 | 86.0 | 90.2 | 86.1 | 91.1 | 36.6 | 36.4 | 36.9 | 36.3 | 35.8 | 36.0 |
| C | 82.8 | 79.2 | 75.0 | 79.3 | 81.2 | 78.7 | 34.9 | 34.5 | 34.9 | 36.0 | 35.8 | 36.7 |
| D | 77.2 | 74.3 | 77.2 | 82.1 | 81.5 | 81.5 | 35.2 | 35.2 | 35.2 | 35.8 | 35.5 | 35.5 |
| E | 77.7 | 77.7 | 80.4 | 82.1 | 81.2 | 80.4 | 37.3 | 36.5 | 36.5 | 44.0 | 36.2 | 36.6 ²⁾ |
| F | 81.6 | 81.7 | 81.5 | 82.8 | 81.0 | 82.7 | 35.3 | 35.2 | 35.2 | 35.6 | 35.2 | 35.0 |
| G | — | — | — | — | — | — ⁴⁾ | — | — | — | — | — | — ⁴⁾ |
| H | 83.7 | 80.9 | 80.3 | 86.5 | 83.0 | 82.5 | 35.3 | 34.8 | 34.6 | 35.1 | 34.5 | 34.7 |
| I | 64.2 | 68.1 | 68.1 | 76.7 | 79.7 | 78.9 ²⁾ | 35.7 | 33.7 | 34.6 | 32.7 | 35.5 | 34.7 |
| J | 93.8 | 97.7 | 99.0 | 92.6 | 94.9 | 87.6 | 44.4 | 42.8 | 44.3 | 44.0 | 43.0 | 45.2 ³⁾ |
| K | 69.9 | 69.2 | 69.6 | 69.7 | 69.2 | 68.9 | 35.2 | 35.6 | 35.5 | 35.5 | 35.5 | 35.0 |
| L | 87.4 | 85.6 | 84.2 | 85.1 | 85.0 | 84.3 | 39.8 | 39.5 | 39.8 | 38.6 | 39.0 | 38.8 ³⁾ |

表4 外れ値数が共同試験成績の解析結果に及ぼす影響

| 項目 | C ¹⁾ | G ²⁾ | 有効 データ数 | 認証値 (平均値) | 拡張不確かさ (包含係数 k=2) | 室間再現 標準偏差 s _R | 室内 標準偏差 s _r |
|---|-----------------|-----------------|------------|-------------------|----------------------|--------------------------------|------------------------------|
| | | | | (%) ⁴⁾ | (%) ⁴⁾ | (%) ⁴⁾ | (%) ⁴⁾ |
| 水分(H ₂ O) | 0 | 0 | 12 | 11.5 | ± 0.6 | 1.0 | 0.3 |
| | 1 | 0 | 11 | 11.7 | ± 0.5 | 0.8 | 0.2 |
| 窒素全量(T-N) | 0 | 0 | 12 | 4.68 | ± 0.06 | 0.10 | 0.04 |
| | 1 | 0 | 11 | 4.70 | ± 0.05 | 0.08 | 0.03 |
| | 2 | 0 | 10 | 4.71 | ± 0.05 | 0.08 | 0.02 |
| りん酸全量(T-P ₂ O ₅) | 0 | 2 | 10 | 8.61 | ± 0.04 | 0.09 | 0.06 |
| | 1 | 2 | 9 | 8.62 | ± 0.05 | 0.08 | 0.03 |
| | 4 | 0 | 8 | 8.61 | ± 0.05 | 0.07 | 0.02 |
| 加里全量(T-K ₂ O) | 0 | 0 | 12 | 0.584 | ± 0.020 | 0.037 | 0.012 |
| | 1 | 0 | 11 | 0.584 | ± 0.022 | 0.038 | 0.009 |
| | 2 | 0 | 10 | 0.584 | ± 0.025 | 0.039 | 0.006 |
| 石灰全量(T-CaO) | 0 | 0 | 12 | 5.72 | ± 0.26 | 0.47 | 0.12 |
| | 1 | 0 | 11 | 5.82 | ± 0.17 | 0.29 | 0.10 |
| | 2 | 0 | 10 | 5.82 | ± 0.18 | 0.30 | 0.08 |
| 有機炭素(O-C) | 0 | 0 | 12 | 20.2 | ± 0.3 | 0.6 | 0.4 |

1) コ克蘭(Cochran)検定による外れ値の数

3) 採用行

2) グラッブス(Grubbs)検定による外れ値の数

4) 質量分率

表4 (続き)

| 項目 | C ¹⁾ | G ²⁾ | 有効 データ数 | 認証値 (平均値) | 拡張不確かさ (包含係数 k=2) | 室間再現 標準偏差 s _R | 室内 標準偏差 s _r |
|------------|-----------------|-----------------|------------|--------------|----------------------|--------------------------------|------------------------------|
| | | | | (mg/kg) | (mg/kg) | (mg/kg) | (mg/kg) |
| 銅全量(T-Cu) | 0 | 0 | 12 | 581 | ± 12 | 24 | 12 |
| | 1 | 0 | 11 | 583 | ± 12 | 22 | 10 |
| | 2 | 0 | 9 | 582 | ± 13 | 20 | 6 |
| 亜鉛全量(T-Zn) | 0 | 0 | 12 | 992 | ± 17 | 32 | 15 |
| ひ素(As) | 0 | 0 | 11 | 21.2 | ± 0.8 | 1.5 | 0.6 |
| | 1 | 0 | 10 | 21.4 | ± 0.9 | 1.4 | 0.5 |
| | 2 | 0 | 9 | 21.4 | ± 0.9 | 1.5 | 0.5 |
| カドミウム(Cd) | 0 | 1 | 10 | 1.81 | ± 0.06 | 0.10 | 0.04 |
| 水銀(Hg) | 0 | 1 | 11 | 0.481 | ± 0.009 | 0.024 | 0.020 |
| ニッケル(Ni) | 1 | 0 | 11 | 73 | ± 3 | 5 | 1 |
| クロム(Cr) | 0 | 0 | 11 | 81 | ± 4 | 7 | 3 |
| | 1 | 0 | 10 | 82 | ± 4 | 7 | 2 |
| 鉛(Pb) | 0 | 1 | 10 | 36.0 | ± 0.9 | 1.8 | 1.1 |
| | 1 | 2 | 8 | 35.4 | ± 0.4 | 0.9 | 0.7 |

3) 共同試験成績の評価

外れ値を除外した試験成績より算出した平均値, 室内標準偏差(s_r), 室間再現標準偏差(s_R), 室間再現相

対標準偏差(RSD_R)及び参考として室間再現 HorRat 値($HorRat_R$)を表5に示した。肥料の分野では RSD_R の評価基準が無いため、食品分野において分析方法の精度の評価をするために用いられている $HorRat_R$ を $RSD_R/PRSD_R$ より参考までに求めた⁸⁾。なお、 $PRSD_R$ (室間再現相対標準偏差の予測値)は平均値を Horwitz 式⁹⁾に代入して求めた。求めた $HorRat_R$ は、水分を除くすべての成分において2以下であった。

表5 共同試験成績の解析結果

| 試験項目 | 試験室数 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁸⁾ | s_r ³⁾ (%) ⁸⁾ | s_R ⁴⁾ (%) ⁸⁾ | RSD_R ⁵⁾ (%) | $PRSD_R$ ⁶⁾ (%) | $HorRat_R$ ⁷⁾ |
|---|--------------------|--|--|--|------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| 水分(H ₂ O) | 11 | 11.7 | 0.2 | 0.8 | 6.9 | 2.8 | 2.51 |
| 窒素全量(T-N) | 11 | 4.70 | 0.03 | 0.08 | 1.7 | 3.2 | 0.55 |
| りん酸全量(T-P ₂ O ₅) | 9 | 8.62 | 0.03 | 0.08 | 0.9 | 2.9 | 0.31 |
| 加里全量(T-K ₂ O) | 11 | 0.584 | 0.009 | 0.04 | 6.5 | 4.3 | 1.50 |
| 石灰全量(T-CaO) | 11 | 5.82 | 0.10 | 0.29 | 5.0 | 3.1 | 1.63 |
| 有機炭素(O-C) | 12 | 20.2 | 0.4 | 0.6 | 3.1 | 2.2 | 1.41 |

1) 解析に用いた試験室数

5) 室間再現相対標準偏差

2) 平均値(データ数=試験室数×併行試験数(3)
×試験日数(2))

6) 室間再現相対標準偏差の予測値

3) 室内標準偏差

7) 室間再現HorRat値

4) 室間再現標準偏差

8) 質量分率

表5 (続き)

| 試験項目 | 試験室数 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ (mg/kg) | s_r ³⁾ (mg/kg) | s_R ⁴⁾ (mg/kg) | RSD_R ⁵⁾ (%) | $PRSD_R$ ⁶⁾ (%) | $HorRat_R$ ⁷⁾ |
|------------|--------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| 銅全量(T-Cu) | 11 | 583 | 9.6 | 22.0 | 3.8 | 6.1 | 0.61 |
| 亜鉛全量(T-Zn) | 12 | 992 | 14.7 | 32.4 | 3.3 | 5.7 | 0.58 |
| 砒素(As) | 10 | 21.4 | 0.55 | 1.45 | 6.8 | 10.1 | 0.67 |
| カドミウム(Cd) | 10 | 1.81 | 0.04 | 0.10 | 5.4 | 14.6 | 0.37 |
| 水銀(Hg) | 11 | 0.481 | 0.02 | 0.02 | 5.0 | 17.9 | 0.28 |
| ニッケル(Ni) | 11 | 73.5 | 1.18 | 4.66 | 6.3 | 8.4 | 0.76 |
| クロム(Cr) | 10 | 82.2 | 2.27 | 6.76 | 8.2 | 8.2 | 1.00 |
| 鉛(Pb) | 8 | 35.4 | 0.68 | 0.88 | 2.5 | 9.4 | 0.26 |

4) 認証値及び不確かさ

ISO Guide 31:2000(JIS Q 0031:2002)⁴⁾において肥料認証標準物質の認証書の必須内容として要求されている認証値及び不確かさを表6に示した。また、ISO Guide 33:2000(JIS Q 0033:2002)¹⁰⁾において肥料認証標準物質の使用にあたり必要となる参考データ(共同試験における室内標準偏差、室間再現標準偏差及び解析に用いた試験室数)を同表に示した。

(1) 拡張不確かさの算出方法

共同試験の総平均値の標準不確かさ u は ISO/TS 21748:2004(JIS Z 8404-1:2006)¹¹⁾に従い、共同試験の室内標準偏差(s_r)、室間再現標準偏差(s_R)、試験室数($p=8\sim 12$)及び各試験室での繰返し試験数($n=6$)から、(a)式により求めた。平均値の不確かさは、拡張不確かさとし、標準不確かさ(u)に包含係数(k)を乗じて求め((b)式)、有効数字2けた以内に丸めた。なお、包含係数(k)は正規分布の信頼水準95%に該当する $k=2$ とした。

$$\text{標準不確かさ}(u) = \sqrt{\frac{(s_R^2 - s_r^2) + \frac{s_r^2}{n}}{p}} \quad \dots (a)$$

$$\text{拡張不確かさ}(U_{95\%}) = k \times u \quad \dots (b)$$

s_R : 室間再現標準偏差

s_r : 室内標準偏差

n : 共同試験の室内繰返し試験数($n = 6$)

p : 共同試験の試験室数

k : 包含係数($k = 2$)

(2) 認証値の決定方法

水分についてはこれまで安定性の確認ができていないことから認証しない値(参考値)とし, その他の試験項目を認証することとした. なお, 認証値は, 共同試験の平均値を拡張不確かさのけた数に丸めて¹²⁾表示した.

表6 認証書に記載する項目

| 試験項目 | 認証する項目 | | 参考データ | | |
|---|--------------------------|---|--|--|--------------------|
| | 認証値 (%) ⁵⁾ | 拡張不確かさ ¹⁾ (%) ⁵⁾ | s_r ²⁾ (%) ⁵⁾ | s_R ³⁾ (%) ⁵⁾ | 試験室数 ⁴⁾ |
| 水分(H ₂ O)(参考値) | 11.7 | 0.5 | 0.17 | 0.81 | 11 |
| 窒素全量(T-N) | 4.70 | 0.05 | 0.03 | 0.08 | 11 |
| りん酸全量(T-P ₂ O ₅) | 8.62 | 0.05 | 0.03 | 0.08 | 9 |
| 加里全量(T-K ₂ O) | 0.58 | 0.02 | 0.01 | 0.04 | 11 |
| 石灰全量(T-CaO) | 5.82 | 0.17 | 0.10 | 0.29 | 11 |
| 有機炭素(O-C) | 20.2 | 0.3 | 0.4 | 0.6 | 12 |

1) 包含係数($k=2$)

2) 室内標準偏差

3) 室間再現標準偏差

4) 解析に用いた試験室数

5) 質量分率

表6 (続き)

| 試験項目 | 認証する項目 | | 参考データ | | |
|------------|----------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| | 認証値 (mg/kg) | 拡張不確かさ ¹⁾ (mg/kg) | s_r ²⁾ (mg/kg) | s_R ³⁾ (mg/kg) | 試験室数 ⁴⁾ |
| 銅全量(T-Cu) | 583 | 12 | 10 | 22 | 11 |
| 亜鉛全量(T-Zn) | 992 | 17 | 15 | 32 | 12 |
| 砒素(As) | 21.4 | 0.9 | 0.5 | 1.4 | 10 |
| カドミウム(Cd) | 1.81 | 0.06 | 0.04 | 0.10 | 10 |
| 水銀(Hg) | 0.481 | 0.009 | 0.020 | 0.024 | 11 |
| ニッケル(Ni) | 73 | 3 | 1 | 5 | 11 |
| クロム(Cr) | 82 | 4 | 2 | 7 | 10 |
| 鉛(Pb) | 35.4 | 0.4 | 0.7 | 0.9 | 8 |

5) 認証標準物質のモニタリング

認証標準物質候補 C の試験項目成分の瓶詰め後及び3ヶ月後の試験成績を表7に示した。試料調製時の平均値と3ヶ月後の平均値の差はいずれの成分も共同試験から算出された室間再現標準偏差の2倍以内であった。

表7 安定性のモニタリング

| 試験項目 | 測定値 | | 測定値の 差の絶対値 (%) ⁴⁾ | s_R ³⁾ (%) ⁴⁾ | $s_R \times 2$ (%) ⁴⁾ |
|---|--|--|------------------------------------|--|-------------------------------------|
| | 0月後 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 3月後 ²⁾ (%) ⁴⁾ | | | |
| 水分(H ₂ O) | 12.1 | 12.3 | 0.2 | 0.81 | 1.6 |
| 窒素全量(T-N) | 4.70 | 4.74 | 0.04 | 0.08 | 0.16 |
| りん酸全量(T-P ₂ O ₅) | 8.65 | 8.52 | 0.13 | 0.08 | 0.16 |
| 加里全量(T-K ₂ O) | 0.619 | 0.625 | 0.006 | 0.038 | 0.076 |
| 石灰全量(T-CaO) | 5.57 | 5.86 | 0.29 | 0.29 | 0.58 |
| 有機炭素(O-C) | 20.7 | 20.2 | 0.5 | 0.63 | 1.3 |

- 1) 試料調製時の併行試験の平均値($n=3$)
- 2) 3ヶ月後の内部品質管理の併行試験の平均値($n=2$)
- 3) 共同試験成績における室間再現標準偏差
- 4) 質量分率

表7 (続き)

| 試験項目 | 測定値 | | 測定値の 差の絶対値 (mg/kg) | s_R ³⁾ (mg/kg) | $s_R \times 2$ (mg/kg) |
|------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| | 0月後 ¹⁾ (mg/kg) | 3月後 ²⁾ (mg/kg) | | | |
| 銅全量(T-Cu) | 570 | 563 | 7 | 22 | 44 |
| 亜鉛全量(T-Zn) | 995 | 1049 | 54 | 32 | 65 |
| 砒素(As) | 19.8 | 20.2 | 0.4 | 1.4 | 2.9 |
| カドミウム(Cd) | 1.83 | 1.85 | 0.02 | 0.10 | 0.20 |
| 水銀(Hg) | 0.51 | 0.47 | 0.04 | 0.02 | 0.05 |
| ニッケル(Ni) | 75.9 | 73.8 | 2.1 | 4.7 | 9.3 |
| クロム(Cr) | 79.0 | 72.9 | 6.1 | 6.8 | 13.5 |
| 鉛(Pb) | 34.8 | 36.0 | 1.3 | 0.9 | 1.8 |

6) 認証標準物質の有効期限

前ロットの肥料認証標準物質 FAMIC-C-09(汚泥発酵肥料)の有効期限は、長期安定性の評価のための試験結果から2年6ヶ月から3年6ヶ月に延長された¹³⁾。その実績を踏まえ、本認証標準物質候補Cの有効期限を3年半後の2016年6月に設定することとした。

また、販売開始後も継続的に安定性モニタリングを実施し、安定性に問題があった成分については、認証値から参考値にするなどの処置を行うこととした。

7) 本認証標準物質の使い方

ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2006)²⁾では、認証標準物質を用いて試験所の日常の内部品質管理又は試験所が開発した試験方法の妥当性確認を実施することが推奨されている。ここで、認証標準物質を用いた試験成績の真度評価の一例として、当センターにおいて採用している内部精度管理方法及びERMアプリケーションノート¹⁴⁾で示されている方法を認証書において紹介することとした。以下では、2009年に調製した認証標準物質Cを内部品質管理に使用した例を紹介する。

(1) 警戒線及び処置線による内部品質管理

併行試験の繰返し数(n)並びに表6の認証値(μ)、室内標準偏差(s_r)及び室間再現標準偏差(s_R)を用いて(c)式、(d1)式及び(e1)式により、技能評価のための標準偏差、警戒線及び処置線を求める¹⁵⁾。なお、併行試験のそれぞれの試験値(又は管理値)を用いる場合は、繰返し数(n)を $n=1$ とし、警戒線((d2)式)及び処置線((e2)式)を算出する。

品質管理成績が処置線の範囲を超えた場合は、その一連の試験を不適合とし、再試験を実施することが望まれる。2回連続してその品質管理成績が警戒線の範囲を超えた場合は、2回目の試験を不適合とし、再試験を実施することが望まれる¹⁶⁾。なお、FAMICでは内部品質管理成績が不適合となった場合には、再試験の他に是正措置として原因の追求等を行っている。

$$\text{技能評価のための標準偏差}(\sigma) = \sqrt{(s_R^2 - s_r^2) + \frac{s_r^2}{n}} \quad \dots (c)$$

$$\text{平均値に対する警戒線} = \mu \pm 2\sigma \quad \dots (d1)$$

$$\text{単一試験値に対する警戒線} = \mu \pm 2s_R \quad \dots (d2)$$

$$\text{平均値に対する処置線} = \mu \pm 3\sigma \quad \dots (e1)$$

$$\text{単一試験値に対する処置線} = \mu \pm 3s_R \quad \dots (e2)$$

s_R : 室間再現標準偏差

s_r : 室内標準偏差

n : 内部品質管理のために実施した併行試験数

μ : 認証値

(2) 測定値と認証値との比較による真度確認

ERM アプリケーションノートで示されている真度確認方法においては、併行試験の繰返し数(n)並びに表 6 の認証値(μ)、拡張不確かさ($U_{95\%}$)を用いて(f)式が成り立てば、併行試験の平均値と認証値に有意差は認められないとする。この測定の不確かさ(u_{meas})を推定するために、測定の標準偏差について a) ~ c) の近似方法がある。

a) 試験室内再現性の標準偏差をおおよその推定値とすることができる。

b) 表 6 の共同試験の結果より得られた室内標準偏差(s_r)を用いることができる。この場合、当該試験室が本認証標準物質における共同試験に参加した試験室と同程度の能力を有すると確認された後に使用できる。

c) 長期間にわたる測定により求めた標準偏差をおおよその推定値とすることができる。ただし、この推定値は標準不確かさを過小評価することとなり、常に一方向に偏りがある試験成績の場合には厳しい確認方法になってしまうので注意が必要である。

$$|\mu - x_{\text{meas}}| \leq 2 \sqrt{\left(\frac{U_{95\%}}{2}\right)^2 + u_{\text{meas}}^2} \quad \dots (f)$$

μ : 認証値

$U_{95\%}$: 認証値の拡張不確かさ(包含係数 $k=2$)

x_{meas} : 測定の平均値

u_{meas} : 測定の標準不確かさ

表8 内部品質管理における試験成績の許容範囲幅

| 分析項目 | 単位 | 認証値 | IQCの | 試験成績許容範囲幅(片側) ²⁾ | | 警戒線範囲幅 (片側) ³⁾ |
|-------|-------------------|-------|-------------------|-----------------------------|-------------------|------------------------------|
| | | | 平均値 ¹⁾ | IQC ⁴⁾ | Col ⁵⁾ | |
| 窒素全量 | (%) ⁶⁾ | 4.19 | 4.31 | 0.07 | 0.08 | 0.25 |
| りん酸全量 | (%) ⁶⁾ | 7.99 | 8.03 | 0.06 | 0.07 | 0.21 |
| 加里全量 | (%) ⁶⁾ | 0.168 | 0.169 | 0.011 | 0.010 | 0.032 |
| 石灰全量 | (%) ⁶⁾ | 2.55 | 2.55 | 0.13 | 0.09 | 0.29 |
| 有機炭素 | (%) ⁶⁾ | 30.7 | 30.9 | 0.6 | 0.5 | 1.5 |
| 銅全量 | (mg/kg) | 810 | 794 | 20 | 18 | 59 |
| 亜鉛全量 | (mg/kg) | 1700 | 1733 | 47 | 41 | 143 |
| ひ素 | (mg/kg) | 12.5 | 12.2 | 0.8 | 0.7 | 2.3 |
| カドミウム | (mg/kg) | 2.71 | 2.72 | 0.05 | 0.05 | 0.15 |
| 水銀 | (mg/kg) | 1.03 | 1.07 | 0.06 | 0.05 | 0.17 |
| ニッケル | (mg/kg) | 39 | 39 | 1 | 1 | 4 |
| クロム | (mg/kg) | 64 | 61 | 4 | 3 | 12 |
| 鉛 | (mg/kg) | 47 | 48 | 2 | 1 | 5 |

1) 単一試験室における内部品質管理成績の総平均値(データ数 = 試験回数(30) × 繰返し数(2))

2) ERMアプリケーションノートによる分析結果許容範囲幅(片側)

$$2\sqrt{(U_{95\%}/2)^2 + u_{\text{meas}}^2}$$

3) JIS Q 0033:2002 による分析結果許容(警戒線)範囲幅(片側)

$$2\sqrt{(s_R^2 - s_r^2) + s_r^2/n}$$

4) u_{meas} には試験毎の内部品質管理成績の併行標準偏差(繰返し数: $n=2$)から算出した標準不確かさの平方平均値(試験回数: $m=30$)

5) u_{meas} には認証値設定の共同試験成績の室内標準偏差から算出した標準不確かさ

6) 質量分率

(3) 内部品質管理方法による分析結果の許容範囲の差

上記(1)の内部品質管理方法は認証標準物質を使用する試験室及び測定方法に関するかたよりの情報がない場合を想定したものであり、現在 FAMIC における肥料分析時の内部品質管理方法として採用しているところである。一方、(2)の ERM アプリケーションノートの真度確認方法は測定方法にかたよりのない場合に用いられる方法であり、真度の許容範囲は必然的に狭くなる。

この ERM アプリケーションノートの真度確認方法を適用するにあたり、(f)式の u_{meas} に①FAMIC 肥飼料安全検査部における FAMIC-C-09 調製時からこれまでの3年6ヶ月間(試験回数: $m=30$)における内部品質管理成績の併行標準偏差($n=2$)から算出した標準不確かさの平方平均値を用いた場合及び②認証値設定のための共同試験で得られた室内標準偏差 s_r から算出した標準不確かさを用いた場合の試験結果の許容範囲の幅(片側)を表8に示した。すべての成分において①及び②の試験結果の許容範囲の幅(片側)の値に大きな差は認められなかったが、(1)で求められる警戒線の幅に比べてかなり小さいものとなった。

また、参考のため、内部品質管理における許容範囲及び3年6ヶ月間(試験回数: $m=30$)の内部品質管理の試験成績の分布の一例(カドミウム)を図1に示した。内部品質管理の試験成績の総平均値は ERM アプリケーションノートにおける(f)式の許容範囲であった。試験毎の平均値はその許容範囲を超えることがあったが、JIS Q 0033:2002 による警戒線を超えることはなかった。

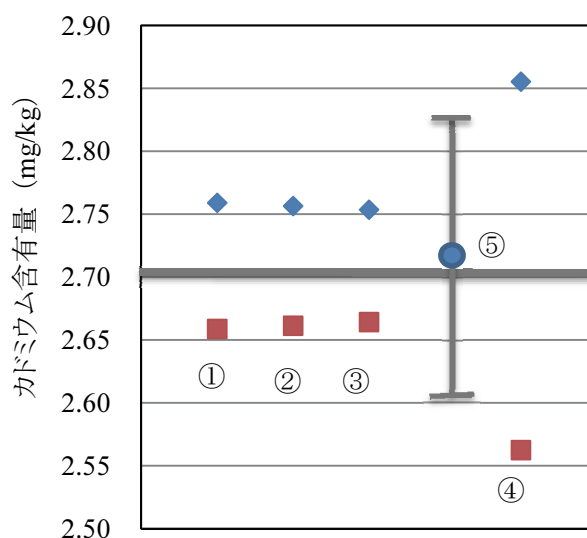


図1 単一試験室における内部品質管理成績の許容範囲(カドミウム)

- ① ERMアプリケーションノートにおける(f)式の u_{meas} に3年6ヶ月間(試験回数: $m=30$)における内部品質管理成績の併行標準偏差($n=2$)から算出した標準不確かさの平方平均値を用いた場合の上下限值
 - ② ERM アプリケーションノートにおける(f)式の u_{meas} に認証値設定のための共同試験で得られた室内標準偏差 s_r から算出した標準不確かさを用いた場合の上下限值
 - ③ ERMアプリケーションノートにおける(f)式の u_{meas} に3年6ヶ月間(試験回数: $m=30$)における内部品質管理成績の再現標準偏差(試験回数: $m=30$, 繰返し数: $n=2$)から算出した標準不確かさを用いた場合の上下限值
 - ④ JIS Q 0033:2002 による警戒線値
 - ⑤ 2009年6月～2012年12月までの内部品質管理成績の総平均値
エラーバーは試験毎の平均値の分布範囲
- 横太線:カドミウムの認証値(2.71 mg/kg)

4. まとめ

2012年度は肥料認証標準物質として汚泥発酵肥料FAMIC-C-12を調製し、その認証値(主要な成分等(窒素全量, リン酸全量, 加里全量, 銅全量, 亜鉛全量, 石灰全量及び有機炭素)並びに有害成分(ヒ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, クロム及び鉛))の決定のための共同試験を行い、ISO Guide 35:2006(JIS Q 0035:2008)³⁾を参考に解析し、ISO Guide 31:2000(JIS Q 0031:2002)⁴⁾の要求事項に基づいて認証書及びラベルを作成した。これらのことについて、肥料等技術検討会肥料認証標準物質調製部会(2012年11月30日)の審議を受け、2013年1月より肥料認証標準物質Cの販売を開始した。

肥料の標準物質は、国内には他になく、また、国外の肥料成分と試験方法が異なる。このような観点から、この標準物質が肥料分析の信頼性確保に貢献するところは大きいものと期待される。

謝 辞

肥料認証標準物質の開発において、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所安井明美博士及び内藤成弘博士、独立行政法人産業技術総合研究所黒岩貴芳博士、財団法人日本肥糧検定協会上沢正志理事及び全国農業協同組合連合会日高秀俊博士には、ご指導いただき感謝いたします。また、共同試験にご協力いただいた内藤環境管理株式会社、株式会社那須環境技術センター、財団法人日本食品分析センター、財団法人日本肥糧検定協会(関西支部・本部)及び平成理研株式会社の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料分析標準試料の配布申請手続き
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>>
- 2) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025: 2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 3) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035: 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 4) ISO Guide 31 (2000): “Reference materials—Contents of certificates and labels” (JIS Q 0031: 2002, 「標準物質—認証書及びラベルの内容」)
- 5) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 6) Thompson, M., R. Ellison, S. Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemical Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78** (1), 145~196 (2006)
- 7) ISO 5725-2 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of standard measurement method” (JIS Z 8402-2: 1999, 「測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度)—第2部:標準測定方法の併行精度及び再現精度を求めるための基本方法」)
- 8) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)
- 9) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
- 10) ISO Guide 33 (2000): “Uses of certified reference materials” (JIS Q 0033: 2002, 「認証標準物質の使い方」)
- 11) ISO/TS 21748 (2004): “Measurement uncertainty-Part 1:Guidance for the use of repeatability reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation” (JIS Z 8404-1 :2006, 「測定の不確かさ-第1部:測定の不確かさの評価における併行精度, 再現精度及び真度の推定値の利用の指針」)
- 12) ISO 31-0 (1992): “Quantities and units—Part 0: General principles, Annex B (Informative) (Guide to the rounding of numbers)” (JIS Z 8401 : 1999, 「数値の丸め方」)
- 13) 廣井利明, 秋元里乃, 八木寿治, 坂東悦子, 恵智正宏, 山西正将, 白井裕治, 柴田政人:2011 年度 肥

料認証標準物質の開発 —高度化成肥料 FAMIC-A-10, 普通化成肥料 FAMIC-B-10 及び汚泥発酵肥料 FAMIC-C-09 の長期安定性試験—, 肥料研究報告, **5**, 90~100 (2012)

- 14) Thomas Linsinger : “Comparison of a measurement result with the certified value”, European Reference Materials' application note 1 , European Commission - Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM)
- 15) ISO 5725-6 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 6: Use in practice of accuracy values” (JIS Z 8402-6: 1999, 「測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度) —第6部: 精確さに関する値の実用的な使い方」)
- 16) Thompson, M., Wood, R.: Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (4), 649~666 (1995)

Preparation of Certified Reference Material (CRM) for Determination of Major Components and Harmful Elements: Composted Sludge Fertilizer (FAMIC-C-12)

Satono AKIMOTO¹, Toshiaki HIROI¹, Toshiharu YAGI¹, Hisanori ARAYA¹, Masato FUNATSU¹,
Etsuko BANDO², Mariko FUJITA¹, Yuji SHIRAI¹ and Masato SHIBATA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Sapporo Regional Center

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has developed a certified reference material (CRM): composted sludge fertilizer (FAMIC-C-12), for analysis of major components and harmful elements. FAMIC-C-12 was certified for the concentrations of total nitrogen (T-N), total phosphoric acid (T-P₂O₅), total potassium (T-K₂O), total calcium (T-CaO), total copper (T-Cu), total zinc (T-Zn), organic carbon (O-C), arsenic (As), cadmium (Cd), mercury (Hg), nickel (Ni), chromium (Cr), and lead (Pb). The certified values were obtained from a statistical analysis of the results of a collaborative study on the chemical analysis of the candidate for CRM. Twelve laboratories participated in this study. In a statistical analysis of data which were reported from participants, outliers were removed by Cochran test and Grubbs test, followed by the usual statistical procedure. The CRMs were expected to be useful for the quality assurance and the quality control in the analysis of major components and harmful elements in sludge fertilizer and compost.

Key words certified reference material (CRM), composted sludge fertilizer, major component, harmful elements, ISO Guide 31, ISO Guide 35, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **6**, 84–100, 2013)

9 2012年度 肥料認証標準物質の開発

—高度化成肥料 FAMIC-A-10 及び普通化成肥料 FAMIC-B-10 の 長期安定性評価—

稲葉茂幸¹, 秋元里乃², 木村康晴¹, 藤田 卓¹, 神川孝文³, 五十嵐総一⁴,
伊藤浩平¹, 廣井利明², 白井裕治²

キーワード 認証標準物質, 化成肥料, 主成分, 有害成分, ISO Guide 31,
ISO Guide 35, 長期安定性, モニタリング試験

1. はじめに

安全な肥料の流通を確保するために独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)が行っている立入検査において収去した肥料の主成分および有害成分の分析は不可欠であり, その試験法には信頼性の確保が求められている. 従前から, 肥料生産事業場の品質管理室, 生産事業場から分析依頼を受けた民間分析機関, 肥料検査機関等の試験所では, 試験成績の信頼性維持及び分析技術の向上のために管理用試料又は肥料認証標準物質¹⁾による内部品質管理が日常的に行われている. 近年国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)²⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. その要求事項には, 「認証標準物質の定期的な使用」を実施することが推奨されている.

また, 現在 FAMIC においては, 肥料認証標準物質 A (高度化成肥料 FAMIC-A-10) 及び同 B (普通化成肥料 FAMIC-B-10) (以下, それぞれ「標準物質 A」「標準物質 B」という.) を調製^{3, 4)}, 販売しており(表 1), これらの作成については, 国際的整合性を確保するため, ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾を参考に調製することとし, ISO Guide 31:2000 (JIS Q 0031:2002)⁶⁾を参考に認証書及びラベルを作成しているところである. 2012年度は, 2013年6月末に有効期限満了となる標準物質 A 及び標準物質 B の長期安定性について, 在庫試料を用い, 認証値設定時からの認証成分のモニタリング及び小規模共同試験を実施したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 安定性のモニタリング

(1) 試験計画

ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾では, 認証標準物質の保管期間中, モニタリングを実施して安定性を確認することが望まれている. 安定性の検討については, 終了時点でのデータを提供する同時期測定型安定性試験及び保存期間中にデータが得られる従来型安定性試験の二つの基本的実験方法がある. 同時

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

³ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター (現)名古屋センター

⁴ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター (現)肥飼料安全検査部

に調製した認証標準物質の保存期間の経時的なデータが必要なことから、後者の方法を長期安定性のモニタリングの方法として選択した。この従来型安定性試験を実施するため、次の a)～f) を FAMILC 神戸センターで計画した。

- a) 分析用試料・・・標準物質 A 及び B の在庫から、それぞれランダムに 1 本を抜き取った試料。
- b) 試験成分・・・認証されたすべての成分(表 1 参照)。
- c) 試験方法・・・認証値設定の共同試験で使用された肥料等試験法⁷⁾(表 2A 及び表 2B を参照)。
- d) 試験時期・・・認証値設定のための共同試験実施後における認証値設定時、12 ヶ月後、20 ヶ月後、24 ヶ月後及び 28 ヶ月後。
- e) 試験室・・・単一試験室(FAMILC 神戸センター)。
- f) 安定性の評価・・・分析時の調製日から経過時間(月数)及びその測定時の分析値の平均値について、JIS Q 0035:2008 付属書 B.5 を参考に解析。

表 1 肥料認証標準物質の概要

| 名称 | 種類 | 原料組成 | 認証成分 | 有効期限 |
|-------------|--------|---|---|----------|
| FAMILC-A-10 | 高度化成肥料 | 尿素, 硫酸アンモニア, リン酸アンモニア, 塩化加里, 副産苦土肥料, 熔成微量元素複合肥料, リン酸, アンモニア | 窒素全量, アンモニア性窒素, 可溶性りん酸, 水溶性加里, 可溶性苦土, 可溶性マンガング, 可溶性ほう素(全7成分) | 2013年6月末 |
| FAMILC-B-10 | 普通化成肥料 | 硫酸アンモニア, 過りん酸石灰, 塩化加里 | アンモニア性窒素, 可溶性りん酸, 水溶性りん酸, 水溶性加里, ひ素, カドミウム, 水銀, ニッケル, 鉛(全9成分) | 2013年6月末 |

表2A 標準物質Aの試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 試験項目番号 ¹⁾ | 試験法の概要 | |
|--|----------------------|------------------|------------------------|
| | | 試料液調製方法 | 測定方法 |
| 窒素全量(T-N) | 4.1.1.a | ケルダール分解/蒸留 | 中和滴定法 |
| | 4.1.1.b | — | 燃焼法 |
| アンモニア性窒素(A-N) | 4.1.2.b | 塩酸(1+20)抽出 | ホルムアルデヒド添加/中和滴定法 |
| 可溶性りん酸(C-P ₂ O ₅) | 4.2.3.a | くえん酸(20 mg/mL)抽出 | バナドモリブデン酸アンモニウム発色/吸光度法 |
| 水溶性加里(W-K ₂ O) | 4.3.3.a | 水抽出 | フレイム原子吸光法 又はフレイム光度法 |
| 可溶性苦土(C-MgO) | 4.6.2.a | くえん酸(20 mg/mL)抽出 | フレイム原子吸光法 |
| 可溶性マンガング(C-MnO) | 4.7.2.a | くえん酸(20 mg/mL)抽出 | フレイム原子吸光法 |
| 可溶性ほう素(C-B ₂ O ₃) | 4.8.1.a | くえん酸(20 mg/mL)抽出 | アゾメチンH発色/ 吸光度法 |

1) 肥料等試験法の試験項目番号

表2B 標準物質Bの試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 試験項目 番号 ¹⁾ | 試験法の概要 | |
|--|--------------------------|----------------------|------------------------|
| | | 試料液調製方法 | 測定方法 |
| アンモニア性窒素(A-N) | 4.1.2.a | 蒸留 | 中和滴定法 |
| 可溶性りん酸(S-P ₂ O ₅) | 4.2.2.a | 水抽出／ペーテルマン氏クエン酸塩溶液抽出 | バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光度法 |
| 水溶性りん酸(W-P ₂ O ₅) | 4.2.4.a | 水抽出 | バナドモリブデン酸アンモニウム発色／吸光度法 |
| 水溶性加里(W-K ₂ O) | 4.3.3.a | 水抽出 | フレイム原子吸光法 又はフレイム光度法 |
| ひ素(As) | 5.2.a | 硫酸－硝酸－過塩素酸分解 | 水素化物発生原子吸光法 |
| カドミウム(Cd) | 5.3.a | 王水分解 | フレイム原子吸光法 |
| 水銀(Hg) | 5.1.a | 硝酸－過塩素酸分解 | 還元気化原子吸光法 |
| ニッケル(Ni) | 5.4.a | 王水分解 | フレイム原子吸光法 |
| 鉛(Pb) | 5.6.a | 王水分解 | フレイム原子吸光法 |

脚注は表2Aを参照

(2) モニタリングの実施

FAMIC 神戸センターにおいて標準物質 A 及び標準物質 B の 2010 年 7 月～9 月, 2011 年 7 月～9 月, 2012 年 4 月～5 月, 2012 年 7 月～9 月及び 2012 年 12 月～2013 年 1 月の計 5 回試験を実施した。

各試験時とも未開封の標準物質 A 及び標準物質 B 各 1 瓶を用いて, 試験成分毎に 2 点併行試験を行った。

報告値のけた数は, 標準物質 A, B については, 有害成分(As, Cd, Hg, Ni, Pb), C-MnO 及び C-B₂O₃ の試験成績は有効数字 3 けた, それ以外の成分は, 小数点以下 2 けたとした。また, 報告値は, 現状の認証値と同様に水分換算しない濃度(有姿濃度)とした。

2) 小規模共同試験

(1) 試験計画

日本分析化学会では標準物質開発⁸⁾において, 小規模の再共同試験を実施し, これにより得られた平均値と認証値との比較により安定性を評価している。よって, この小規模の再共同試験を実施するため, 次の a)～f) を FAMIC 肥飼料安全検査部で計画した。

- 分析用試料…標準物質 A 及び B の在庫から, それぞれランダムに 6 本を抜き取った試料。
- 試験成分…認証されたすべての成分(表 1 参照)。
- 試験方法…認証値設定の共同試験で使用された肥料等試験法⁷⁾(表 2A 及び表 2B を参照)。
- 試験時期…認証値設定のための共同試験実施後, 約 24 ヶ月後。
- 試験室…FAMIC 6 試験室(肥飼料安全検査部, 札幌センター, 仙台センター, 名古屋センター, 神戸センター, 福岡センター)。
- 安定性の評価…各試験項目の試験成績について ISO 5725-2:1994 (JIS Z 8402-2:1999)⁹⁾を参考に解析。

(2) 共同試験の実施

FAMIC の 6 試験室による小規模共同試験を 2012 年 7 月～9 月に実施した。各試験室においては, 未開封

の肥料認証標準物質 A, B 各 1 瓶を用いて, 試験成分毎に 2 点併行試験を行った. 報告値のけた数は, 有害成分 (As, Cd, Hg, Ni, Pb), C-MnO 及び C-B₂O₃ の試験成績は有効数字 3 けた, それ以外の成分は, 小数点以下 2 けたとした. また, 報告値は, 現状の認証値と同じ水分換算しない濃度 (有姿濃度) とした.

3. 結果及び考察

1) 安定性のモニタリング

(1) モニタリング成績

標準物質 A 及び標準物質 B の試験項目成分の安定性試験成績を表 3 に示した. ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2006)²⁾では, 肥料認証標準物質を用いて試験所の日常の内部品質管理又は試験所が開発した試験方法の妥当性確認を実施することが推奨されている. FAMIC では, 肥料認証標準物質を用いた試験成績の真度評価を実施している. 内部品質管理のために実施した併行試験の繰返し数 (n) 並びに認証値 (μ), 室内標準偏差 (s_r) 及び室間再現標準偏差 (s_R) を用いて (a) 式, (b) 式及び (c) 式により, 技能評価のための標準偏差, 警戒線及び処置線を求めた¹⁰⁾.

標準物質 A 及び標準物質 B ともに試験期間の 28 ヶ月後までに実施した試験成績は, いずれの試験項目も警戒線の範囲内であった.

$$\text{技能評価のための標準偏差}(\sigma) = \sqrt{(s_R^2 - s_r^2) + \frac{s_r^2}{n}} \quad \dots (a)$$

$$\text{平均値に対する警戒線} = \mu \pm 2\sigma \quad \dots (b)$$

$$\text{平均値に対する処置線} = \mu \pm 3\sigma \quad \dots (c)$$

n : 繰返し試験数

s_R : 室間再現標準偏差

s_r : 室内標準偏差

μ : 認証値

表3 標準物質A及び標準物質Bの安定性のモニタリング¹⁾成績

| 試験項目 | 単位 | 認証値 (μ) | 警戒線 ²⁾ | | 安定性のモニタリング成績 ³⁾ | | | | |
|---|-----------------|------------------|-------------------|-------|----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | | | 下方 | 上方 | 調製時 | 12ヶ月 | 20ヶ月 | 24ヶ月 | 28ヶ月 |
| (標準物質A) | | | | | | | | | |
| 窒素全量 (T-N) | % ⁴⁾ | 14.71 | 14.46 | 14.95 | 14.89 | 14.80 | 14.84 | 14.52 | 14.63 |
| アンモニア性窒素 (A-N) | % ⁴⁾ | 10.66 | 10.35 | 10.96 | 10.61 | 10.84 | 10.90 | 10.72 | 10.73 |
| く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅) | % ⁴⁾ | 10.05 | 9.80 | 10.30 | 10.12 | 10.13 | 10.06 | 10.00 | 10.04 |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | % ⁴⁾ | 13.59 | 13.29 | 13.89 | 13.37 | 13.68 | 13.72 | 13.66 | 13.70 |
| く溶性苦土 (C-MgO) | % ⁴⁾ | 3.28 | 3.09 | 3.47 | 3.32 | 3.32 | 3.36 | 3.35 | 3.35 |
| く溶性マンガン (C-MnO) | % ⁴⁾ | 0.403 | 0.385 | 0.421 | 0.402 | 0.398 | 0.388 | 0.399 | 0.416 |
| く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃) | % ⁴⁾ | 0.209 | 0.198 | 0.220 | 0.207 | 0.203 | 0.209 | 0.214 | 0.216 |
| (標準物質B) | | | | | | | | | |
| アンモニア性窒素 (A-N) | % ⁴⁾ | 8.38 | 8.12 | 8.64 | 8.41 | 8.29 | 8.28 | 8.18 | 8.33 |
| 可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅) | % ⁴⁾ | 8.10 | 8.00 | 8.20 | 8.01 | 8.11 | 8.09 | 8.13 | 8.16 |
| 水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅) | % ⁴⁾ | 7.00 | 6.87 | 7.13 | 6.91 | 7.01 | 7.00 | 6.97 | 6.95 |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | % ⁴⁾ | 8.85 | 8.62 | 9.08 | 8.66 | 8.83 | 8.68 | 9.03 | 9.01 |
| ひ素 (As) | mg/kg | 2.36 | 2.02 | 2.71 | 2.62 | 2.40 | 2.25 | 2.39 | 2.30 |
| カドミウム (Cd) | mg/kg | 6.04 | 5.67 | 6.42 | 5.84 | 5.94 | 5.88 | 6.00 | 5.93 |
| 水銀 (Hg) | mg/kg | 0.86 | 0.77 | 0.94 | 0.89 | 0.89 | 0.87 | 0.89 | 0.94 |
| ニッケル (Ni) | mg/kg | 45.3 | 40.9 | 49.7 | 44.0 | 47.3 | 45.2 | 45.8 | 46.9 |
| 鉛 (Pb) | mg/kg | 26.2 | 21.1 | 31.4 | 23.7 | 26.4 | 25.9 | 26.0 | 22.2 |

1) 調製後の試験実施日から起算して28ヶ月後までモニタリング

2) JIS Q 0033:2002 による分析結果許容(警戒線)範囲 ($n=2$)

$$\mu \pm 2\sqrt{(s_R^2 - s_r^2) + s_r^2/n}$$

3) 試験毎の平均値(併行試験数 $n=2$)

4) 質量分率

2) 肥料認証標準物質の長期安定性評価

標準物質 A 及び標準物質 B の認証値設定時(0ヶ月), 12ヶ月後, 20ヶ月後, 24ヶ月後及び28ヶ月後までの経過月並びに各回の測定の平均値並びに安定性試験の評価結果を表 4-1 及び表 4-2 に示した. 安定性の評価は, 経過月の平均値と各回の測定の平均値を用いて ISO Guide 35:2006(JIS Q 0035:2008)を参考に次の手順で行った. まず, (d)式及び(e)式より, 経過月及び分析値との回帰直線の傾き(b_1)及び切片(b_0)を求めた. 次に, (f)式及び(g)式より, 推定誤差の標準偏差(s)及び傾きの標準偏差(s_{b_1})を求めた. 傾きの標準偏差(s_{b_1})と t 値($t_{0.95, n-2}$)を乗じた値と傾きの絶対値($|b_1|$)を比較した.

その結果, 標準物質 A 及び B の全ての認証成分において, $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$ となり, 傾きは有意とは認められなかった. これにより標準物質 A 及び B の認証成分は, 認証値設定時から2年4ヶ月間安定であったと評価した.

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad \dots (d)$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x} \quad \dots (e)$$

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n (y_i - b_0 - b_1 x_i)^2} \quad \cdots (f)$$

$$s_{b_1} = s / \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad \cdots (g)$$

判定基準: $|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$ \cdots 有意でない(安定)
 $|b_1| \geq s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$ \cdots 有意である(不安定)

x_i : 調製後初回の試験実施日からモニタリング実施日までの経過時間(月)

\bar{x} : x_i の平均値(月)

y_i : モニタリング実施日の測定値の平均値

\bar{y} : y_i の試験成績の総平均値(n =試験実施月数(5))

b_1 : 回帰直線の傾き

b_0 : 回帰直線の切片

s : 予測の標準誤差の標準偏差(推定残差($y_i - \hat{y}_i$)の標準偏差)

s_{b_1} : 回帰直線の傾きの不確かさ(傾きの標準誤差)

$t_{0.95, n-2}$: t 値(両側有意水準 $\alpha = 0.05$, 自由度 $n - 2$)

表4-1 標準物質A及び標準物質Bの安定性のモニタリング¹⁾成績の評価結果

| 試験項目 | \bar{x} ²⁾ (mon.) | \bar{y} ³⁾ (%) ¹⁰⁾ | 回帰分析結果 | | | | s_{b_1} ⁷⁾ ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ¹⁰⁾ | 判定 基準 ⁸⁾ ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ¹⁰⁾ | 判定 ⁹⁾ |
|---|-----------------------------------|---|--|---|---|--------|--|---|------------------|
| | | | b_1 ⁴⁾ ($\frac{\%}{\text{mon.}}$) ¹⁰⁾ | b_0 ⁵⁾ (%) ¹⁰⁾ | s ⁶⁾ (%) ¹⁰⁾ | | | | |
| (標準物質A) | | | | | | | | | |
| 窒素全量 (T-N) | 16.8 | 14.73 | -0.0127 | 14.96 | 0.11 | 0.005 | 0.0162 | ○ | |
| アンモニア性窒素 (A-N) | 16.8 | 10.76 | 0.0047 | 10.67 | 0.13 | 0.006 | 0.0182 | ○ | |
| く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅) | 16.8 | 10.07 | -0.0040 | 10.13 | 0.03 | 0.002 | 0.0049 | ○ | |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | 16.8 | 13.62 | 0.0122 | 13.41 | 0.10 | 0.005 | 0.0144 | ○ | |
| く溶性苦土 (C-MgO) | 16.8 | 3.34 | 0.0009 | 3.33 | 0.01 | 0.0006 | 0.0018 | ○ | |
| く溶性マンガン (C-MnO) | 16.8 | 0.400 | 0.0007 | 0.386 | 0.010 | 0.0004 | 0.0014 | ○ | |
| く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃) | 16.8 | 0.210 | 0.0003 | 0.206 | 0.005 | 0.0002 | 0.0007 | ○ | |
| (標準物質B) | | | | | | | | | |
| アンモニア性窒素 (A-N) | 16.8 | 8.29 | -0.0084 | 8.46 | 0.09 | 0.004 | 0.0131 | ○ | |
| 可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅) | 16.8 | 8.10 | 0.0030 | 8.06 | 0.02 | 0.001 | 0.0032 | ○ | |
| 水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅) | 16.8 | 6.97 | 0.0020 | 6.93 | 0.05 | 0.002 | 0.0068 | ○ | |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | 16.8 | 8.84 | 0.0117 | 8.64 | 0.14 | 0.006 | 0.0195 | ○ | |

1) 調製後の試験実施日から起算して28ヶ月後までモニタリング

2) 調製後初回の試験実施日からモニタリング実施日までの経過時間の平均値(月)

3) 試験成績の総平均値(データ数 = 試験実施月数(5) × 併行試験数(2))

4) 回帰直線の傾き

5) 回帰直線の切片

6) 推定誤差の標準偏差

7) 回帰直線の傾きの不確かさ(傾きの標準偏差)

8) $s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$

9) ○は次式に適合して傾きは有意とは認められず, 安定と評価した成分

$$|b_1| < s_{b_1} \times t_{0.95, n-2}$$

10) 表中の%は質量分率

表4-2 標準物質Bの安定性のモニタリング¹⁾成績の評価結果

| 試験項目 | \bar{x} ²⁾ (mon.) | \bar{y} ³⁾ (mg/kg) | 回帰分析結果 | | | | s_{b_1} ⁷⁾ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$) | 判定 基準 ⁸⁾ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$) | 判定 ⁹⁾ |
|------------|-----------------------------------|------------------------------------|---|--------------------------------|------------------------------|-------|---|--|------------------|
| | | | b_1 ⁴⁾ ($\frac{\text{mg/kg}}{\text{mon.}}$) | b_0 ⁵⁾ (mg/kg) | s ⁶⁾ (mg/kg) | | | | |
| (標準物質B) | | | | | | | | | |
| ひ素 (As) | 16.8 | 2.39 | -0.0094 | 2.54 | 0.08 | 0.003 | 0.0109 | ○ | |
| カドミウム (Cd) | 16.8 | 5.92 | 0.0023 | 5.89 | 0.05 | 0.002 | 0.0073 | ○ | |
| 水銀 (Hg) | 16.8 | 0.89 | 0.0027 | 0.84 | 0.02 | 0.001 | 0.0035 | ○ | |
| ニッケル (Ni) | 16.8 | 45.8 | 0.0616 | 44.8 | 1.2 | 0.055 | 0.1765 | ○ | |
| 鉛 (Pb) | 16.8 | 24.8 | -0.0532 | 26.0 | 1.8 | 0.082 | 0.2614 | ○ | |

脚注は表4-1を参照

3) 小規模共同試験

(1) 共同試験成績

各試験室から報告された共同試験成績を表 5A, 及び表 5B に示した. 各試験項目の試験成績について ISO 5725-2:1994 (JIS Z 8402-2:1999)⁹⁾を参考に統計処理することとし, 試験成績の外れ値を検出するために, コクラン(Cochran)検定及びグラブズ(Grubbs)検定を実施した. 標準物質 B の水銀及びニッケルにおいて有意水準 1 %で外れ値が検出されたが, 試験室数が少なく, かつ分散が非常に小さいことから, 外れ値を除外せずに解析した. また, その他の成分においては有意水準 1 %で外れ値は検出されなかった.

| 試験室 ¹⁾ | 窒素全量 (T-N) | | アンモニア性窒素 (A-N) | | 可溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅) | | 水溶性加里 (W-K ₂ O) | |
|-------------------|------------|-------|----------------|-------|---|-------|----------------------------|-------|
| | A | 14.73 | 14.67 | 10.86 | 10.88 | 10.03 | 10.06 | 13.54 |
| B | 14.58 | 14.61 | 10.75 | 10.73 | 10.01 | 10.02 | 13.68 | 13.66 |
| C | 14.67 | 14.71 | 10.93 | 10.83 | 9.80 | 9.88 | 13.88 | 13.86 |
| D | 14.64 | 14.77 | 10.82 | 10.73 | 9.84 | 9.88 | 13.49 | 13.69 |
| E | 14.50 | 14.53 | 10.69 | 10.75 | 10.04 | 9.96 | 13.48 | 13.83 |
| F | 14.61 | 14.58 | 10.63 | 10.65 | 10.11 | 10.09 | 13.61 | 13.32 |

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

| 試験室 ¹⁾ | 可溶性苦土 (C-MgO) | | 可溶性マンガン (C-MnO) | | 可溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃) | |
|-------------------|---------------|------|-----------------|-------|---|-------|
| | A | 3.33 | 3.29 | 0.392 | 0.391 | 0.205 |
| B | 3.37 | 3.33 | 0.415 | 0.416 | 0.207 | 0.206 |
| C | 3.13 | 3.10 | 0.395 | 0.398 | 0.209 | 0.207 |
| D | 3.22 | 3.14 | 0.417 | 0.407 | 0.211 | 0.206 |
| E | 3.32 | 3.38 | 0.397 | 0.400 | 0.211 | 0.217 |
| F | 3.30 | 3.25 | 0.403 | 0.400 | 0.213 | 0.205 |

| 試験室 ¹⁾ | アンモニア性窒素 (A-N) | | 可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅) | | 水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅) | | 水溶性加里 (W-K ₂ O) | |
|-------------------|----------------|------|---|------|---|------|----------------------------|------|
| | A | 8.36 | 8.37 | 8.12 | 8.13 | 7.00 | 7.02 | 8.89 |
| B | 8.26 | 8.27 | 8.18 | 8.19 | 6.98 | 6.98 | 8.99 | 9.08 |
| C | 8.17 | 8.23 | 8.11 | 7.99 | 7.10 | 7.06 | 9.01 | 9.08 |
| D | 8.23 | 8.21 | 8.10 | 8.11 | 7.02 | 7.00 | 8.80 | 8.86 |
| E | 8.18 | 8.17 | 8.17 | 8.09 | 6.98 | 6.96 | 9.04 | 9.02 |
| F | 8.54 | 8.47 | 8.16 | 8.16 | 7.11 | 7.09 | 8.87 | 8.92 |

1) 共同試験に参加した試験室の記号(順不同)

2) コクラン(Cochran)検定による外れ値

| 試験室 ¹⁾ | (mg/kg) | | | | | | | | | |
|-------------------|---------|------|------------|------|---------|---------------------|-----------|--------------------|--------|------|
| | ひ素 (As) | | カドミウム (Cd) | | 水銀 (Hg) | | ニッケル (Ni) | | 鉛 (Pb) | |
| A | 2.25 | 2.40 | 6.01 | 5.98 | 0.858 | 0.859 | 45.0 | 47.0 | 26.5 | 25.2 |
| B | 2.18 | 2.27 | 6.07 | 6.03 | 0.869 | 0.876 | 47.1 | 46.4 | 28.4 | 26.6 |
| C | 2.20 | 2.37 | 6.06 | 6.04 | 0.901 | 0.880 ²⁾ | 46.8 | 46.3 ²⁾ | 25.1 | 25.9 |
| D | 2.34 | 2.24 | 6.35 | 6.41 | 0.824 | 0.822 | 46.4 | 47.1 | 24.8 | 25.3 |
| E | 2.39 | 2.38 | 6.01 | 5.99 | 0.891 | 0.892 | 45.1 | 46.5 | 25.7 | 26.3 |
| F | 2.43 | 2.24 | 5.85 | 5.83 | 0.906 | 0.906 | 45.5 | 45.6 | 26.1 | 26.4 |

表6-1 標準物質A及び標準物質Bの小規模共同試験成績の解析結果

| 試験項目 | 試験室数 ¹⁾ | 試験 平均値 ²⁾ (%) ⁹⁾ | 拡張不 確かさ ³⁾ (%) ⁹⁾ | s_r ⁴⁾ (%) ⁹⁾ | RSD _r ⁵⁾ (%) | s_R ⁶⁾ (%) ⁹⁾ | RSD _R ⁷⁾ (%) | HorRat _R ⁸⁾ |
|---|--------------------|--|---|--|---------------------------------------|--|---------------------------------------|-----------------------------------|
| | | | | | | | | |
| (標準物質A) | | | | | | | | |
| 窒素全量 (T-N) | 6 | 14.63 | 0.06 | 0.05 | 0.3 | 0.08 | 0.6 | 0.21 |
| アンモニア性窒素 (A-N) | 6 | 10.77 | 0.08 | 0.04 | 0.4 | 0.09 | 0.9 | 0.32 |
| く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅) | 6 | 9.98 | 0.08 | 0.04 | 0.4 | 0.10 | 1.1 | 0.38 |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | 6 | 13.64 | 0.11 | 0.15 | 1.1 | 0.13 | 1.2 | 0.46 |
| く溶性苦土 (C-MgO) | 6 | 3.26 | 0.08 | 0.04 | 1.1 | 0.10 | 3.1 | 0.91 |
| く溶性マンガン (C-MnO) | 6 | 0.403 | 0.008 | 0.003 | 0.8 | 0.009 | 2.4 | 0.52 |
| く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃) | 6 | 0.208 | 0.003 | 0.003 | 1.7 | 0.004 | 2.1 | 0.41 |
| (標準物質B) | | | | | | | | |
| アンモニア性窒素 (A-N) | 6 | 8.29 | 0.07 | 0.03 | 0.3 | 0.13 | 1.5 | 0.53 |
| 可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅) | 6 | 8.13 | 0.02 | 0.04 | 0.5 | 0.06 | 0.7 | 0.23 |
| 水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅) | 6 | 7.03 | 0.03 | 0.02 | 0.2 | 0.05 | 0.8 | 0.26 |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | 6 | 8.95 | 0.09 | 0.04 | 0.5 | 0.10 | 1.1 | 0.38 |

1) 解析に用いた試験室数

2) 平均値(データ数 = 試験室数 × 室内繰返し試験数(2))

3) 包含係数(k=2)

4) 室内標準偏差

5) 室内相対標準偏差

6) 室間再現標準偏差

7) 室間再現相対標準偏差

8) 室間再現HorRat値(参考値)

9) 質量分率

表6-2 標準物質Bの小規模共同試験成績の解析結果

| 試験項目 | 試験室数 ¹⁾ | 試験 平均値 ²⁾ (mg/kg) | 拡張不 確かさ ³⁾ (mg/kg) | s_r ⁴⁾ (mg/kg) | RSD _r ⁵⁾ (%) | s_R ⁶⁾ (mg/kg) | RSD _R ⁷⁾ (%) | HorRat _R ⁸⁾ |
|------------|--------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| | | | | | | | | |
| (標準物質B) | | | | | | | | |
| ひ素 (As) | 6 | 2.31 | 0.04 | 0.09 | 4.1 | 0.09 | 3.7 | 0.26 |
| カドミウム (Cd) | 6 | 6.05 | 0.15 | 0.02 | 0.4 | 0.18 | 3.0 | 0.24 |
| 水銀 (Hg) | 6 | 0.874 | 0.024 | 0.006 | 0.7 | 0.030 | 3.5 | 0.21 |
| ニッケル (Ni) | 6 | 46.2 | 0.4 | 0.8 | 1.7 | 0.8 | 1.6 | 0.18 |
| 鉛 (Pb) | 6 | 26.0 | 0.7 | 0.7 | 2.8 | 1.0 | 3.8 | 0.38 |

脚注は表6-1を参照

(2) 拡張不確かさの算出方法

小規模共同試験の総平均値の標準不確かさ u は ISO/TS 21748:2004 (JIS Z 8404-1:2006)¹¹⁾ に従い、共同試験の室内標準偏差 (s_r)、室間再現標準偏差 (s_R)、試験室数 ($p = 6$) 及び各試験室での繰返し試験数 ($n = 2$) から、(h) 式により求めた。平均値の不確かさは、拡張不確かさとし、標準不確かさ (u) に包含係数 (k) を乗じて求め (i) 式、有効数字 2 桁以内に丸めた。なお、包含係数 (k) は正規分布の信頼水準 95 % に該当する $k = 2$ とした。

$$\text{標準不確かさ}(u) = \sqrt{\frac{(s_R^2 - s_r^2) + \frac{s_r^2}{n}}{p}} \quad \dots (h)$$

$$\text{拡張不確かさ}(U_{95\%}) = k \times u \quad \dots (i)$$

s_R : 室間再現標準偏差

s_r : 室内標準偏差

n : 共同試験の室内繰返し試験数 ($n = 2$)

p : 共同試験の試験室数 ($p = 6$)

k : 包含係数 ($k = 2$)

(3) 試験成績の解析及び評価

試験成績より算出した平均値、拡張不確かさ、室内標準偏差 (s_r)、室内相対標準偏差 (RSD_r)、室間再現標準偏差 (s_R)、室間再現相対標準偏差 (RSD_R) を表 6-1 及び表 6-2 に示した。また、参考値として室間再現 HorRat 値 (HorRat_R) を示した。 HorRat_R は食品分析分野において化学分析法の精度を評価するために用いられており、 RSD_R/PRSD_R により求められる¹²⁾。なお、 PRSD_R は、平均値を Horwitz 式¹³⁾に代入して求めた。 HorRat_R はいずれも 2 以下でコーデックス委員会の分析精度の受け入れ基準を満たした¹⁴⁾。

標準物質 A 及び標準物質 B の認証値設定時の認証値等及び 2 年後の小規模共同試験の平均値等並びに安定性試験の評価結果を表 7-1 及び表 7-2 に示した。評価手法として、認証値設定時の共同試験平均値 (認証値) とその 2 年後の小規模共同試験成績の平均値の差について ISO 5725-6:1994 (JIS Z 8402-6:1999)¹⁰⁾ 8.4.9.3.2 を参考に式 (j) により有意差検定を行った。なお、認証値の標準不確かさは、認証値設定時の共同試験成績 (試験室数 ($p = 9 \sim 12$), 室内繰返し試験数 ($n = 2$)) に (2) の (h) 式を適用して算出したものである⁴⁾。その結果、すべての認証成分において、以下の判定基準が $|\mu - x_{\text{meas}}|/s \leq 2.0$ となり、有意差は認められなかったため、標準物質 A 及び標準物質 B のすべての認証成分は認証値設定から 2 年間安定であったと評価した。

判定基準: $|\mu - x_{\text{meas}}|/s \leq 2.0 \dots$ 有意でない (安定)

$|\mu - x_{\text{meas}}|/s > 2.0 \dots$ 有意である (不安定)

$$s = \sqrt{\left(\frac{U_{95\%}}{2}\right)^2 + u_{\text{meas}}^2}$$

$$|\mu - x_{\text{meas}}| \leq 2 \sqrt{\left(\frac{U_{95\%}}{2}\right)^2 + u_{\text{meas}}^2} \cdots (j)$$

μ : 認証値

$U_{95\%}$: 認証値の拡張不確かさ(包含係数 $k=2$)

x_{meas} : 小規模共同試験成績の平均値

u_{meas} : 小規模共同試験成績の平均値の標準不確かさ

表7-1 標準物質A及び標準物質Bの安定性試験の評価結果

| 試験項目 | 認証値設定時の 共同試験結果 ¹⁾ | | | 小規模共同試験結果 ²⁾ | | | 安定性評価 | | |
|---|---------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------|-------|-------------------------------------|
| | 試験 室数 ³⁾ | 認証値 ⁴⁾ | 標準不 確かさ | 試験 室数 ³⁾ | 平均値 ⁵⁾ | 標準不 確かさ | $ \mu - x_{\text{meas}} $ | s | $\frac{ \mu - x_{\text{meas}} }{s}$ |
| | | (%) ⁶⁾ | (%) ⁶⁾ | | (%) ⁶⁾ | (%) ⁶⁾ | | | |
| (標準物質A) | | | | | | | | | |
| 窒素全量 (T-N) | 9 | 14.71 | 0.04 | 6 | 14.63 | 0.03 | 0.07 | 0.05 | 1.45 |
| アンモニア性窒素 (A-N) | 10 | 10.66 | 0.05 | 6 | 10.77 | 0.04 | 0.11 | 0.06 | 1.91 |
| く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅) | 11 | 10.05 | 0.04 | 6 | 9.98 | 0.04 | 0.08 | 0.06 | 1.35 |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | 11 | 13.59 | 0.04 | 6 | 13.64 | 0.05 | 0.05 | 0.07 | 0.69 |
| く溶性苦土 (C-MgO) | 11 | 3.28 | 0.02 | 6 | 3.26 | 0.04 | 0.01 | 0.05 | 0.31 |
| く溶性マンガン (C-MnO) | 9 | 0.403 | 0.003 | 6 | 0.403 | 0.004 | 0.0004 | 0.005 | 0.09 |
| く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃) | 11 | 0.209 | 0.002 | 6 | 0.208 | 0.001 | 0.001 | 0.002 | 0.37 |
| (標準物質B) | | | | | | | | | |
| アンモニア性窒素 (A-N) | 11 | 8.38 | 0.03 | 6 | 8.29 | 0.05 | 0.09 | 0.06 | 1.42 |
| 可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅) | 10 | 8.10 | 0.01 | 6 | 8.13 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 1.02 |
| 水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅) | 9 | 7.00 | 0.02 | 6 | 7.03 | 0.02 | 0.026 | 0.03 | 0.85 |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | 9 | 8.85 | 0.04 | 6 | 8.95 | 0.04 | 0.10 | 0.05 | 1.95 |

1) 2010年9月実施

4) 平均値(データ数 = 試験室数 × 室内繰返し試験数(6))

2) 2012年9月実施

5) 平均値(データ数 = 試験室数 × 室内繰返し試験数(2))

3) 解析に用いた試験室数

6) 質量分率

表7-2 標準物質Bの安定性試験の評価結果

| 試験項目 | 認証値設定時の 共同試験結果 ¹⁾ | | | 小規模共同試験結果 ²⁾ | | | 安定性評価 | | |
|------------|---------------------------------|-------------------|------------|-------------------------|-------------------|------------|---------------------------|------|-------------------------------------|
| | 試験 室数 ³⁾ | 認証値 ⁴⁾ | 標準不 確かさ | 試験 室数 ³⁾ | 平均値 ⁵⁾ | 標準不 確かさ | $ \mu - x_{\text{meas}} $ | s | $\frac{ \mu - x_{\text{meas}} }{s}$ |
| | | (mg/kg) | (mg/kg) | | (mg/kg) | (mg/kg) | | | |
| ひ素 (As) | 11 | 2.36 | 0.05 | 6 | 2.31 | 0.02 | 0.06 | 0.05 | 1.03 |
| カドミウム (Cd) | 11 | 6.04 | 0.05 | 6 | 6.05 | 0.07 | 0.01 | 0.09 | 0.08 |
| 水銀 (Hg) | 10 | 0.86 | 0.01 | 6 | 0.87 | 0.01 | 0.016 | 0.02 | 0.93 |
| ニッケル (Ni) | 11 | 45.3 | 0.62 | 6 | 46.2 | 0.21 | 0.91 | 0.66 | 1.38 |
| 鉛 (Pb) | 12 | 26.2 | 0.73 | 6 | 26.0 | 0.34 | 0.20 | 0.80 | 0.25 |

脚注は表7-1を参照

(4) 認証値の不確かさの評価

ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾では、認証値に付随する不確かさに長期安定性の不確かさを評価することを推奨しているが、現状の標準物質 A 及び標準物質 B の不確かさに、長期安定性の不確かさは含まれていない。

ISO 5725-6:1994 (JIS Z 8402-6:1999)¹⁰⁾を参考に認証値設定時と小規模共同試験の全体の精度の比較を行った。認証値設定時の共同試験の結果と上記 3.3) の小規模共同試験結果より式 (k) 及び式 (l) を用い、標準不確かさ及び室内精度の比較を行い、F 検定による判定結果を表 8-1 及び表 8-2 に示した。その結果、標準物質 A 及び標準物質 B のすべての認証成分について、認証値の不確かさは認証値設定から 2 年の間に変化したという証拠はなかった。なお、室内標準偏差については、標準物質 A の水溶性加里だけに有意差が認められたが、2) 安定性モニタリングにおける標準物質 A の水溶性加里の室内標準偏差 0.10 と小規模共同試験の室内標準偏差 0.15 に有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。よって、水溶性加里の室内標準偏差についても精度が悪くなったとみなす必要はないと判断した。

$$\text{標準不確かさの比較}(F_R) = \frac{\frac{s_{R_B}^2 - s_{r_B}^2}{p_B} + \frac{s_{r_B}^2}{p_B n_B}}{\frac{s_{R_A}^2 - s_{r_A}^2}{p_A} + \frac{s_{r_A}^2}{p_A n_A}} \quad \dots (k)$$

A: 認証値設定時の値

B: 2012 年の小規模共同試験時の値

p: 共同試験の試験室数

n: 共同試験の繰返し分析回数

s_R : 室間再現標準偏差

s_r : 室内標準偏差

判定基準: $F_R \leq F(p_B - 1, p_A - 1; \text{両側有意水準 } \alpha = 0.05)$ …有意とはいえない
(不確かさが異なるという証拠はない)

$F_R > F(p_B - 1, p_A - 1; \text{両側有意水準 } \alpha = 0.05)$ …有意である
(不確かさが大きくなったといえる)

$$\text{室内精度の比較}(F_r) = \frac{s_{r_B}^2}{s_{r_A}^2} \quad \dots (l)$$

判定基準: $F_r \leq F(p_B(n_B - 1), p_A(n_B - 1); \text{両側有意水準 } \alpha = 0.05)$ …有意とはいえない
(室内標準偏差が異なるという証拠はない)

$F_r > F(p_B(n_B - 1), p_A(n_B - 1); \text{両側有意水準 } \alpha = 0.05)$ …有意である
(室内標準偏差が大きくなったといえる)

表8-1 F検定による標準物質A及び標準物質Bの不確かさ及び室内精度の比較

| 試験項目 | 認証値設定時の 共同試験結果 ¹⁾ | | | 小規模共同試験結果 ²⁾ | | | 不確かさの 比較 | | 室内精度の 比較 | |
|---|---------------------------------|--------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|
| | 試験 室数 ³⁾ | 標準不 確かさ ⁴⁾ | s_r ⁴⁾ | 試験 室数 ³⁾ | 標準不 確かさ ⁴⁾ | s_r ⁴⁾ | F_R ⁵⁾ | 棄却限 界値 ⁶⁾ | F_r ⁷⁾ | 棄却限 界値 ⁸⁾ |
| | | | | | | | | | | |
| (標準物質A) | | | | | | | | | | |
| 窒素全量 (T-N) | 9 | 0.04 | 0.05 | 6 | 0.03 | 0.05 | 0.65 | 4.82 | 0.83 | 2.70 |
| アンモニア性窒素 (A-N) | 10 | 0.05 | 0.08 | 6 | 0.04 | 0.04 | 0.68 | 4.48 | 0.30 | 2.67 |
| く溶性りん酸 (C-P ₂ O ₅) | 11 | 0.04 | 0.05 | 6 | 0.04 | 0.04 | 1.35 | 4.24 | 0.53 | 2.65 |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | 11 | 0.04 | 0.08 | 6 | 0.05 | 0.15 | 1.60 | 4.24 | 3.33 | 2.65 |
| く溶性苦土 (C-MgO) | 11 | 0.02 | 0.08 | 6 | 0.04 | 0.04 | 2.50 | 4.24 | 0.22 | 2.65 |
| く溶性マンガン (C-MnO) | 9 | 0.003 | 0.005 | 6 | 0.004 | 0.003 | 1.72 | 4.82 | 0.43 | 2.70 |
| く溶性ほう素 (C-B ₂ O ₃) | 11 | 0.002 | 0.004 | 6 | 0.001 | 0.003 | 0.92 | 4.24 | 0.76 | 2.65 |
| (標準物質B) | | | | | | | | | | |
| アンモニア性窒素 (A-N) | 11 | 0.03 | 0.10 | 6 | 0.05 | 0.03 | 0.09 | 4.24 | 0.08 | 2.65 |
| 可溶性りん酸 (S-P ₂ O ₅) | 10 | 0.01 | 0.05 | 6 | 0.02 | 0.04 | 0.02 | 4.48 | 0.70 | 2.67 |
| 水溶性りん酸 (W-P ₂ O ₅) | 9 | 0.02 | 0.03 | 6 | 0.02 | 0.02 | 0.026 | 4.82 | 0.30 | 2.70 |
| 水溶性加里 (W-K ₂ O) | 9 | 0.04 | 0.06 | 6 | 0.04 | 0.04 | 0.10 | 4.82 | 0.46 | 2.70 |

1) 2010年9月実施

2) 2012年9月実施

3) 解析に用いた試験室数

4) 室内標準偏差

5) 不確かさの分散比

6) $F(p_{B-1}, p_{A-1};$ 両側有意水準 $\alpha=0.05)$

7) 室内精度の分散比

8) $F((2-1)p_B, (6-1)p_A;$ 両側有意水準 $\alpha=0.05)$

9) 質量分率

表8-2 F検定による標準物質Bの不確かさ及び室内精度の比較

| 試験項目 | 認証値設定時の 共同試験結果 ¹⁾ | | | 小規模共同試験結果 ²⁾ | | | 不確かさの 比較 | | 室内精度の 比較 | |
|------------|---------------------------------|--------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|
| | 試験 室数 ³⁾ | 標準不 確かさ ⁴⁾ | s_r ⁴⁾ | 試験 室数 ³⁾ | 標準不 確かさ ⁴⁾ | s_r ⁴⁾ | F_R ⁵⁾ | 棄却限 界値 ⁶⁾ | F_r ⁷⁾ | 棄却限 界値 ⁸⁾ |
| | | | | | | | | | | |
| 砒素 (As) | 11 | 0.05 | 0.09 | 6 | 0.02 | 0.09 | 0.19 | 4.24 | 1.09 | 2.65 |
| カドミウム (Cd) | 11 | 0.05 | 0.12 | 6 | 0.07 | 0.02 | 1.89 | 4.24 | 0.04 | 2.65 |
| 水銀 (Hg) | 10 | 0.01 | 0.03 | 6 | 0.01 | 0.01 | 1.01 | 4.48 | 0.05 | 2.67 |
| ニッケル (Ni) | 11 | 0.6 | 1.3 | 6 | 0.2 | 0.8 | 0.12 | 4.24 | 0.36 | 2.65 |
| 鉛 (Pb) | 12 | 0.7 | 1.0 | 6 | 0.3 | 0.7 | 0.22 | 4.04 | 0.52 | 2.63 |

脚注は表8-1を参照

4) 肥料認証標準物質の有効期限

標準物質 A 及び標準物質 B の有効期限については、2013年6月末としていたが長期安定性に関する1)安定性のモニタリング及び2)小規模共同試験の結果、認証値設定から2年4ヶ月間の安定性が確認されたため、肥料等技術検討会肥料認証標準物質調製部会(2012年11月30日)の審議を受け、有効期限を2年延長し2015年6月末に変更した。また、この有効期限内に変質等が見られた場合には、FAMICのホームページに掲載することで使用者に周知することとした。なお、既に配付済みの使用者に対しては、有効期限が2015年6月末まで延長されたことを電子メール又は文書の郵送で周知した。

5) 認証値の不確かさについて

ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾では、認証値に付随する不確かさに長期安定性の不確かさを評価することを推奨しているが、現状の標準物質 A 及び標準物質 B の不確かさに、長期安定性の不確かさは含まれていない。しかしながら、今回の 2) 肥料認証標準物質の長期安定性評価及び 3) 小規模共同試験の長期安定性の評価結果により、認証値及び不確かさは現時点での有効性が確認されたことから、それらの数値の変更の必要性は認められなかった。

4. まとめ

FAMIC は、肥料認証標準物質として標準物質 A (高度化成肥料 FAMIC-A-10) 及び標準物質 B (普通化成肥料 FAMIC-B-10) の有効期限を確認するために長期安定性試験を実施した。長期安定性試験は、モニタリング及び小規模共同試験により実施した。前者の試験結果を ISO Guide 35:2006 (JIS Q 0035:2008)⁵⁾を参考に統計解析し、安定性を評価した。また、後者の試験結果を ISO 5725-2:1994 (JIS Z 8402-2:1999)⁹⁾を参考に統計解析し、安定性を評価した。これらの結果、標準物質 A 及び標準物質 B について調製後 2 年 4 ヶ月間の認証成分の安定性が確認された。更に、後者の試験結果を ISO 5725-6:1994 (JIS Z 8402-6:1999)¹⁰⁾を参考に統計解析し、室間再現性精度及び室内精度の推移を確認したところ、認証書に記載されている不確かさが変化したという証拠は認められなかった。このことについて肥料等技術検討会肥料認証標準物質調製部会の審議を受け、標準物質 A 及び標準物質 B についての有効期限を 2 年間延長して 2015 年 6 月末までとした。

肥料認証標準物質の認証成分の長期安定性を確認し、有効期限を延長することにより、利用者の利便性が向上すると考えられる。一方、肥料の認証標準物質は、国内には他に作成している例はなく、また、国外においても肥料成分と測定方法が異なる等から作成されていない。このような観点から、この標準物質の利用促進が、肥料分析の信頼性確保に貢献するところは大きいものと期待される。

文 献

- 1) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) : 肥料分析標準試料の配布申請手続き
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub6.html>>
- 2) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 3) 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 関根優子, 及川裕美, 添田英雄, 阿部文浩, 白井裕治, 柴田政人: 2009 年度 肥料認証標準物質の開発－汚泥発酵肥料 FAMIC-C-09－, 肥料研究報告, 3, 95~106 (2010)
- 4) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人: 2010 年度 肥料認証標準物質の開発－高度化成肥料 FAMIC-A-10 及び普通化成肥料 FAMIC-B-10－, 肥料研究報告, 4, 107~121, (2009)
- 5) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 6) ISO Guide 31 (2000): “Reference materials—Contents of certificates and labels” (JIS Q 0031 : 2002, 「標準物質—認証書及びラベルの内容」)
- 7) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) : 肥料等試験法

<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>

- 8) 保母敏行, 飯田芳男, 石橋耀一, 岡本研作, 川瀬晃, 中村利廣, 中村洋, 平井昭司, 松田りえ子, 山崎慎一, 四方田千佳子, 小野昭紘, 柿田和俊, 坂田衛, 滝本憲一: 日本分析化学会における標準物質開発, 分析化学, 57, 6, 363~392 (2008)
- 9) ISO 5725-2 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of standard measurement method” (JIS Z 8402-2 : 1999, 「測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度) — 第2部: 標準測定方法の併行精度及び再現精度を求めるための基本方法」)
- 10) ISO 5725-6 (1994): “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 6: Use in practice of accuracy values” (JIS Z 8402-6: 1999, 「測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度) — 第6部: 精確さに関する値の実用的な使い方」)
- 11) ISO/TS 21748 (2004): “Measurement uncertainty-Part 1: Guidance for the use of repeatability reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation” (JIS Z 8404-1 :2006, 「測定の不確かさ-第1部: 測定の不確かさの評価における併行精度, 再現精度及び真度の推定値の利用の指針」)
- 12) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)
- 13) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, Analyst, 125, 385~386 (2000)
- 14) Codex Alimentarius Commission: CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL Twentieth edition, p66 (2011)

Long-term Stability Evaluation of Fertilizer Certified Reference Materials for Determination of Major Components and Harmful Elements: High-Analysis Compound Fertilizer (FAMIC-A-10) and Ordinary Compound Fertilizer (FAMIC-B-10)

Shigeyuki INABA¹, Satono AKIMOTO², Yasuharu KIMURA¹, Taku FUJITA¹, Takafumi KAMIKAWA³,
Souichi IGARASHI⁴, Kouhei ITOU¹, Toshiaki HIROI² and Yuji SHIRAI²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

³ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

(Now) Nagoya Regional Center

⁴ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) has performed long-term stability examinations to confirm shelf lives of fertilizer certified reference materials (CRMs), high-analysis compound fertilizer (FAMIC-A-10) and ordinary compound fertilizer (FAMIC-B-10), for analysis of major components and harmful elements. FAMIC-A-10 is certified for the contents of total nitrogen (T-N), ammonium nitrogen (A-N), citric acid-soluble phosphorus (C-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), citric acid-soluble magnesium (C-MgO), citric acid-soluble manganese (C-MnO) and citric acid-soluble boron (C-B₂O₃). FAMIC-B-10 is certified for the concentrations of ammonium nitrogen (A-N), neutral citrate-soluble phosphorus (S-P₂O₅), water-soluble phosphorus (W-P₂O₅), water-soluble potassium (W-K₂O), arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb), nickel (Ni) and mercury (Hg). The monitoring long-term stability was evaluated by a statistical analysis of the results of monitoring stability examination on the chemical analysis of the stock CRMs. The data was performed a statistical analysis in reference to ISO Guide 35: 2006. In addition, the long-term stability was evaluated by a statistical analysis of the results of a small scale collaborative study (6 laboratories) on the chemical analysis of the stock CRMs. The data reported from participants was performed a statistical analysis in reference to ISO 5725: 1994. From these results of the statistical analysis, the all certified values of the CRMs were stable for two years and four months after preparation. As a result of the statistical analysis of the data of the latter study in reference to ISO 5725-6:1994, it did not show evidence that the certified value and its uncertainty should have been updated. The CRMs were expected to be useful for the quality assurance and the quality control in the analysis of major components and harmful elements in compound fertilizers.

Key words certified reference material (CRM), compound fertilizer, major component, harmful elements, ISO Guide 31, ISO Guide 35, long-term stability, monitoring, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, 6, 101~116, 2013)

10 コマツナの生理障害

—りん酸—

藤田 卓¹

キーワード 欠乏症状, 過剰症状, 下葉の赤紫色化, 下葉の脱色及び壊死

1. はじめに

肥料中の有害成分による植物の異常症状の有無を判定する手段として、植物に対する害に関する栽培試験(以下、「植害試験」という)の方法が農林水産省農蚕園芸局長通知¹⁾により定められている。普通肥料の公定規格²⁾では、副産肥料や汚泥肥料等で植害試験の結果、植物に害の認められないことが求められている。植害試験では、原則として供試作物にコマツナを用い、その生育状況から肥料中の植物に有害な成分の有無を判定する。しかし、試験中に発生する異常症状には、有害成分の他にも、病虫害、必須成分の欠乏又は過剰、多量施肥等様々な要因がある。発生した症状が、有害成分によるものか、他の要因によるものかを判別することは難しい。また、窒素、りん酸等植物の必須成分の欠乏又は過剰に起因する症状を生理障害というが、コマツナを対象として生理障害の詳細を記した文献は少ない。

そこで、独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)では、植害試験中に発生する症状を的確に判定することを目的として、意図的にコマツナの生理障害を発生させて、その症状を観察・記録した資料の作成を行っている。加えて、今後 FAMIC で作成を予定している植害試験法の詳細な手順及び解説書の基礎データ蓄積も目的としている。今回はりん酸を対象として試験を実施したので、その結果を報告する。

2. 材料及び方法

本試験は欠乏症状及び過剰症状確認試験の2試験からなる。両試験とも、りん酸源以外の肥料には硫酸アンモニア及び塩化加里を用い、Nまたは K_2O として1ポット当たり各100mgとなるよう施用した。1/10000 aノイバウエルポットに、施肥後の供試土壌をポット底から約5cmまで充填し、供試作物のコマツナ(品種名:夏楽天)を20粒播種した。栽培条件は、人工気象装置(小糸工業 コイトロン KG50-HLA型)内で光量子束密度約 $485 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、照明時間12時間、気温昼間 25°C 、夜間 20°C 、湿度70%の一定とした。灌水は最大容水量の60%を目安に管理し、ローラーポンプ式自動給水装置(古江サイエンス製 RP-MRFS)を併用した。栽培条件を均一にするため、人工気象装置内でのポットの配置は休日を除く毎日、無作為に換えた。

試験に用いた供試土壌の理化学性を表1に示した。なお、本文中の可給態りん酸は全てトルオーグ法によるりん酸とする。欠乏症状確認試験では、供試土壌として黒ボク土を用い、供試肥料として過りん酸石灰を P_2O_5 として1ポット当たり0mg, 10mg, 25mg, 50mg, 100mg及び200mg添加した計6区、各2連の試験区を設け、24日間栽培した。また、別に0mg及び10mgの回復試験区を設け、欠乏症と考えられる症状を発生した場合、0.3%りん酸1カリウム溶液を1日1回適量葉面散布した。過剰症状確認試験では、褐色低地土を用い、供試肥料としてりん酸二水素カルシウムを P_2O_5 として1ポット当たり100mg, 300mg, 500mg, 700mg, 900mg, 1100

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

mg, 1300 mg 及び 1500 mg 添加した計 8 区, 各 2 連の試験区を設け, 21 日間栽培した. 調査項目は, 通常の植害試験と同様, 発芽率, 異常症状の確認, 葉長, 収穫物の葉体重量(生体重, 乾物重)の他, 葉体のりん及びカリウム含有率(乾物当たり)とした.

表1 供試土壌の理化学性

| | | |
|----------------------------|-------|----------|
| 土壌の種類 | 黒ボク土 | 褐色低地土 |
| 土性 | L(壤土) | LS(壤質砂土) |
| 水分(%) | 26.92 | 1.06 |
| 最大容水量(mL/100g 乾土) | 108 | 43 |
| pH(土:H ₂ O=1:5) | 5.82 | 6.98 |
| 電気伝導度(mS/m) | 5.8 | 2.4 |
| 可給態りん酸(mg/100g 乾土) | 2.7 | 121 |
| りん酸吸収係数 | 2290 | 320 |

3. 結果及び考察

1) りん酸の生理作用

りん酸は H_2PO_4^- または HPO_4^{2-} の形態で根から吸収される³⁾. 作物体内では, りん酸の形のまま無機態, 有機態として存在しているが, 大部分は後者であり, 細胞分裂や遺伝現象に関与する核酸や核タンパク質, 原形質膜の構成成分で物質透過に関与するりん脂質, 炭酸同化や解糖系に関与するATP, NADP 等の糖りん酸エステルとして重要である. また種子中ではフィチンとして貯蔵され, 発芽に際してはフィターゼの作用により分解されて, 無機りんとして利用される⁴⁾.

りん酸は窒素やカリウム等と同様に作物体内を移動しやすく, 根や葉の先端など生長の盛んな組織に集積し, 細胞の増加に利用される. 特に細胞が著しく増加する生育初期に重要である⁵⁾.

りん酸が欠乏した場合によく見られる症状として, 葉が赤紫色を呈することがある⁴⁾. しかし, 亜鉛欠乏⁶⁾等他の原因によっても同様の症状を示すため, はっきり見出すことは難しい⁷⁾. また, 相当な欠乏でない限り, 外見的に症状は現れにくく, 体内で潜在的に欠乏が起きている場合が多い⁵⁾. 従って, 正確な診断には, 肉眼による観察の他, 欠乏症が疑われた場合, りん酸の追肥による作物の反応, 作物体や土壌のりん酸測定が必要と考えられる⁴⁾.

2) 生理障害の症状

(1) 欠乏症状

りん酸は, 土壌に施用された場合, 多くはカルシウム, アルミニウム, 鉄と結合した形態で固定され, ほとんど移動しない. カルシウムと結合したりん酸は植物に吸収されやすいが, アルミニウムや鉄に結合したりん酸は非常に溶けにくい. 黒ボク土などの火山灰土壌にはアルミニウムや鉄が多く含まれているので, 施用したりん酸の多くはこれらと結合して植物に利用されない⁸⁾. このことを考慮して, 農蚕園芸局長通知¹⁾では, りん酸吸収係数の高い土壌を使用する場合, りん酸不足のおそれがあるので, 施用量を所定の 1~2 倍まで増やすよう定めている. また, 土壌中に可溶性りん酸として存在していても, 低温であると作物に吸収されないことがある. これは, 根からのりん酸の吸収にはエネルギーが必要なため, 低温では根の活性が低いことによる⁹⁾.

本試験では, りん酸の施用量が減少するに従って, 葉体の生育不良や収量の低下が認められ, 0 mg, 10mg 区の乾物重は他の多くの施用区と比較して有意に低かった(写真 1, 図 1). これは, りん酸が

核酸やりん脂質などの構成成分として細胞を形成していること及び糖りん酸エステル構成物質として炭酸同化などのエネルギー代謝に関与していることに起因する。0.3 %りん酸 1 カリウム溶液の葉面散布による回復試験では、散布 2 日目頃から生育状況が改善し始め、試験終了時まで明らかな効果がみられた(写真 2)。りん酸欠乏が疑われる生育不良の確認方法として、葉面散布の有効性が実証できた。りん酸は細胞の増加が著しい生育初期に多く吸収されることから⁵⁾、葉面散布の実施時期が早いほど効果が大きいと考えられた。窒素が欠乏すると、生育は停止し、葉緑素の生産が減少するため、葉は淡緑色となり、さらに著しいときは黄化する⁴⁾。この症状は下葉から現れるが、特に子葉の変化が明瞭である¹⁰⁾。これに対して、りん酸欠乏による生育不良では、窒素が欠乏せず余剰している場合、子葉の葉色は緑色から変化しなかった(写真 3)。同じ生育不良であっても、子葉の葉色が異なるのは両者の明確な差異と言える。

葉体の生育と同様にりん酸の施用量が少ないと、根が発育せず、0 mg 区では根毛の発達がほとんど見られなかった(写真 4)。硝酸態窒素は土壌中では水と共に移動するが、前述したようにりん酸は土壌に固定されるためほとんど移動しない⁸⁾。従って、根毛が発達せず根圏が小さいと、土壌中で根とりん酸とが接する量も減るため、りん酸不足を招くだけでなく⁹⁾、窒素やカリウムなどの吸収も悪くなり、他の要素も欠乏しやすくなる⁵⁾。0.3 %りん酸 1 カリウム溶液の葉面散布によって、根張りの状態も回復した(写真 5)。葉面から吸収されたりん酸は葉体だけでなく根にも移動して、組織の発達に利用されたことが伺われた。

0 mg, 10 mg 区では葉が暗緑色を呈し、25 mg, 50 mg 区では葉裏の葉脈を中心として赤紫色に変色した(写真 6, 7)。また、100mg, 200 mg 区でも程度や頻度は低くなるものの赤紫色に変色する葉が確認された(写真 8)。りん酸は、新しく生長する組織へ移行するため、古い組織から欠乏症が発生する。従って、欠乏症状は通常下葉から現れるが、欠乏の著しいときには上葉にもおよびることがある⁴⁾(写真 9)。葉が暗緑色からさらには赤紫色に変色したのは、作物体内のりん酸が欠乏したため、炭水化物がエネルギー源として利用されなくなり、糖分とアントシアニンとが結合してアントシアニンを生成したことが原因である⁴⁾。低施用量区の 0 mg, 10 mg 区で赤紫色までの変色が見られなかったのは、生育不良で葉齢を経るのが遅れたことと炭酸同化によって糖分が十分生成しなかったことによると考えられた。野菜では、黒ボク土の可給態りん酸の適正範囲は 20 mg~100 mg/100 g 乾土程度と考えられている⁸⁾。200 mg 区の可給態りん酸は 19 mg/100 g 乾土で、適正範囲の下限とほぼ同じであった。無機質肥料の植害試験で、りん酸吸収係数の高い土壌を使用する場合、りん酸が不足しないように P₂O₅として 100 mg~200 mg を基準量として施用するよう定めているが、それでもなお欠乏症状が発生する場合のあることが示唆された。トマトのりん酸欠乏では特に葉裏の葉脈に強く暗紫~紫紅色が現れる⁶⁾が、通常の植害試験では栽培期間中に葉裏まで観察することは少ない。本試験の前に供試作物としてコマツナ(品種名:極楽天)を用いて予備試験を実施したところ、葉表の周辺部に赤紫色への変色が見られた(写真 10)。作物や品種等によって変色の様相に差異があるので、見落とすことがないように留意すべきと考えられた。

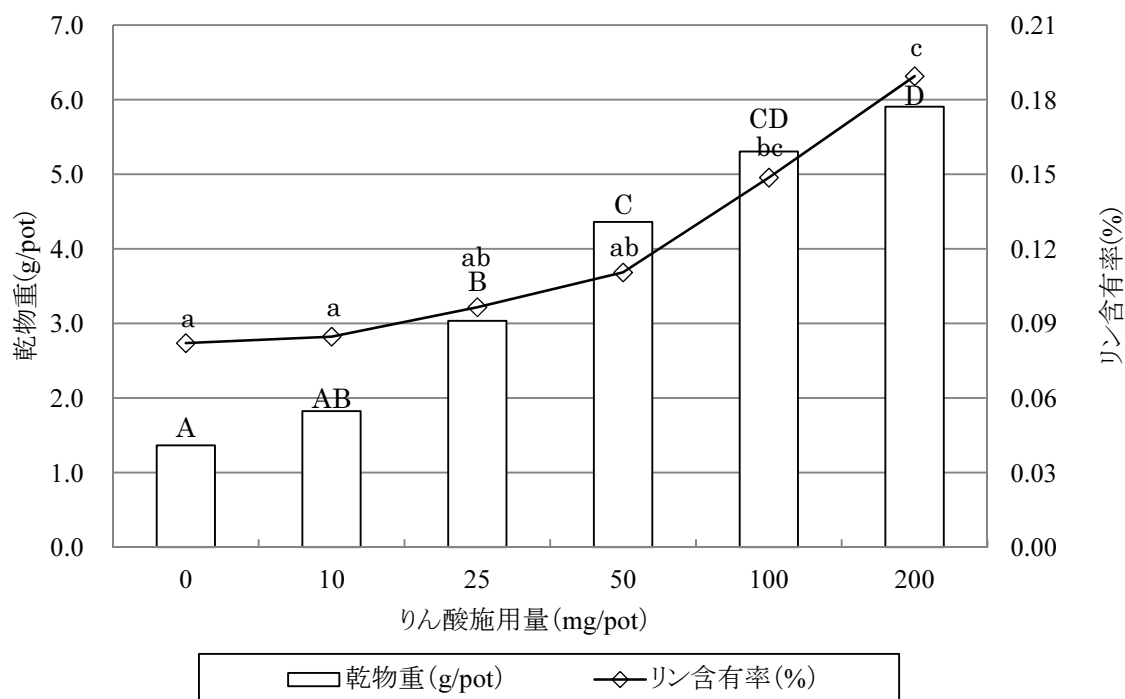
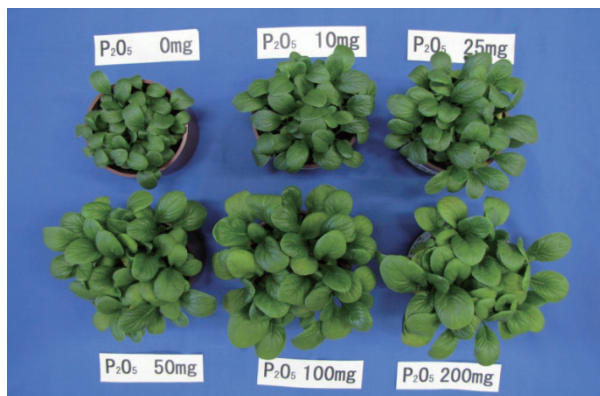


図1 葉体の乾物重及びリン含有率(乾物当たり)
異なる英文字は、5%水準で有意差有り(Tukeyの方法による)。
大文字は乾物重、小文字はリン含有率を示す。



(写真1) 播種24日後の様子. 0 mg 区の生育状況が著しく悪い. 葉体の乾物重及びりん含有率(乾物当たり)も施用量が少なくなるに従って低下した.



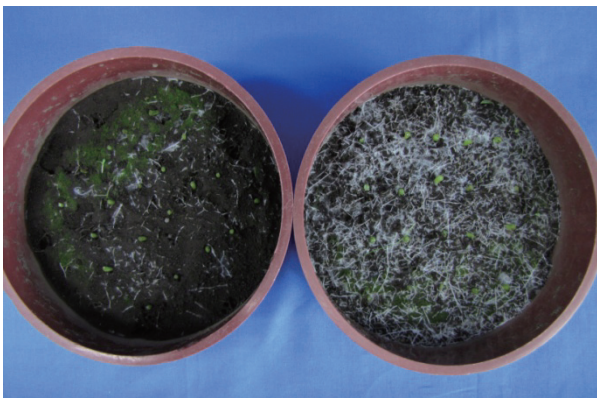
(写真2) 播種24日後の様子. 葉面散布を始めて2日目頃から効果が現れ, 試験終了時には明らかな生育状況の改善が認められた. 10 mg 区でも葉面散布により同様の効果がみられた. りん酸は生育初期に多く吸収されることから, 早い段階で散布を開始すると効果が大きいと考えられる.



(写真3) 播種24日後の0 mg 区の様子. 試験終了時でも窒素が余剰しているため, 子葉は緑色を保持した. 通常窒素が欠乏すると子葉は黄化する. 写真9も参照.



(写真4) 0 mg 区(左側)と200 mg 区(右側)の比較. 0 mg 区では根毛が発達せず, 根圏も小さい. りん酸は土壌に固定されてほとんど移動しないため, 根圏が小さいとあまり吸収されない.



(写真5) 0 mg 区(左側)と葉面散布による回復試験区(右側)の比較. 葉面散布によって, 葉体だけでなく根張りの状態も改善した. 葉面から吸収されたりん酸が根にも移動して利用されたことが分かる.



(写真6) 播種21日後の10 mg 区の様子. 葉は暗緑色を呈するが, 赤紫色までの変色は葉裏でも見られなかった.



(写真7) 播種24日後の25 mg区の様子. 0 mgや10 mg区と同様に葉表は暗緑色を呈したが, 切り取って葉裏を観察したところ, 葉脈を中心としてアントシアニンによる赤紫色への変色がみられた.



(写真8) 播種24日後の200 mg区の様子. 25 mgや50 mg区ほどではないが, 葉裏に赤紫色への変色がみられた. 黒ボク土のようにりん酸吸収係数が高い土壌では, 通常の施用量であっても欠乏症を発症することがあると考えられた.



(写真9) N, P_2O_5 , K_2O として各々25 mg添加した通常の植害試験の標準区での, 播種24日後の様子. りん酸欠乏による葉裏の赤紫色への変色だけでなく, 窒素欠乏による子葉の黄化もみられた. また, りん酸欠乏が著しいときには写真の様に上葉にも変色がおよぶことがある.



(写真10) 供試作物としてコマツナ(品種名:極楽天)を用いた予備試験での播種21日後の様子. 25 mg区で葉表の周辺部が赤紫色を呈した. 50 mg, 100 mg区でも程度や頻度は異なるものの同様の症状が見られた. 一般に欠乏症状は, 生育の盛んな上葉にりん酸が移動して, 下葉で不足するため発症するので, ある程度生育した後半時期に見られる.

(2) 過剰症状

従来、りん酸の過剰症状は発生しにくいと考えられていた¹¹⁾。しかし、施肥りん酸の利用率は10%～20%程度であり、窒素の50%～60%、カリウムの60%～80%に比べて極端に低い。また、土壤からの流亡が他の要素に比べて非常に少ないため、作付け毎に余剰りん酸が土壤中に蓄積される傾向にある。可給態りん酸は50 mg/100 g 乾土もあれば充分と考えられてきたが、近年では可給態りん酸が200 mg～300 mg/100 g 乾土、時には500 mg/100 g 乾土に近い土壤もある。近年、原因不明の野菜の生理障害が多く発生しており、その原因のひとつとしてりん酸の土壤への異常蓄積が懸念されている⁹⁾。

りん酸を過剰に吸収すると、成熟が促進されるため栄養生長が止まり、かえって収量が低下することがある⁴⁾。本試験でも、りん酸の施用量が増えるに従って、生育不良や収量の低下が認められ、高施用量区の1300 mg, 1500 mg 区では、乾物重が他の多くの施用区と比較して有意に低かった(写真 11, 図 2)。しかし、発芽率も同様に低下していることから、今回に関してはりん酸過剰による生理障害ではなく、多量施肥による塩類濃度障害とみるほうが妥当である。

播種 17 日後に低施用量区の 100 mg, 300 mg 区で、本葉の脱色が見られた(写真 12)。本症状は、主に 1, 2 葉目の葉縁から内部に向かって葉脈間に進行し、最終的に壊死した(写真 13, 14)。遅れて他の試験区でも、施用量の少ない区から順に発症したが、高施用量区の 1300 mg, 1500 mg 区では栽培期間中に発症しなかった(写真 15)。通常、りん酸は生長の盛んな新葉部に移行するが、過剰症状を生じているものは旧葉に異常にりん酸が蓄積する⁹⁾。本試験でも、主に 3 葉目以降の新葉がある程度生育してから 1～2 葉目の旧葉で発症した。100 mg, 300 mg 区の生育は良好であり、葉齢を経るのも他の区に比べて早かったことから最も早く発症したと推察された。川合ら¹²⁾は、ダイコンの葉枯れ障害について、土壤中のりん酸過剰により葉体のりん含有率が高まり、これに高温が影響して発生すること及びカリウムの増施でかなり抑制できることを報告している。また、猿田ら¹³⁾はキャベツの葉色異常・壊死について、葉体のカリウムに対するりん(P/K)が発症区で高いこと及びカリウム欠乏症の外見と類似していることから、りん酸過剰に起因するカリウム欠乏症の可能性を指摘し、りん酸による直接的な障害の他に、りとカリウムの相互関係について検討する必要性を述べている。本試験で見られた葉縁から葉脈間に進行する脱色も、コマツナのカリウム欠乏症の外見⁶⁾とよく似ている。そこで、葉体のりん、カリウム含有率(乾物当たり)及び P/K を図 3 に示した。植物中でりんは 0.1%～0.5% 必要と考えられている¹⁴⁾が、過剰症状確認試験区のりん含有率は 700 mg 区をピークとして 0.93%～1.61% の範囲にあった。また、欠乏症状確認試験の 200 mg 区の 0.19% と比較しても明らかに高く、1300 mg 区を除いて有意差も認められた。一方、カリウム含有率は 3.72%～6.48% の範囲にあった。カリウム含有率は、りん酸の施用量に従って増加する傾向を示し、1300 mg, 1500 mg 区では、他のほとんどの施用区と比較して有意に高かった。これは、りん酸の施用量が少ない試験区ほど生育が良好であったため、ポット内の交換性カリウムを消費して余剰が少なくなったことが原因と考えられた。その結果、100 mg～1100 mg 区まではほぼ一定であった P/K は、1300 mg, 1500 mg 区では有意差が認められるまで急に低下し、欠乏症状確認試験の 200 mg 区とほぼ同じ値になった。1300 mg, 1500 mg 区で異常症状が発生しなかった原因として、生育不良で上葉の発育が遅れたことに加え、りとカリウムとのバランスが適正であったことも考えられた。以上より、本症状は、下葉にりん酸が異常蓄積したことに端を発して、りんに対してカリウムが相対的に不足したことが原因と推察された。

過剰症状確認試験では、その他に以下に述べる 3 つの症状が確認できた。(1) 700 mg 区以降の試験区で、子葉全体が黄緑色を呈した。また、子葉ほどではないが本葉にも同様の傾向が見られた(写真 16)。(2) 300 mg 区以降の試験区で、播種 11 日後頃より、本葉がある程度の大きさになると順次先端あ

るいは周辺部にかけて淡緑色に変色した(写真 17). (3) 播種 6 日後頃から 500 mg 区以降で子葉に白色斑点群がみられた(写真 18). これら 3 症状に共通しているのは子葉も含めて発生した葉から順次発生した点であり, 上葉がある程度生育してから下葉で発生した脱色・壊死の症状とは時期的な差異があった. 葉体中でのりん酸移動の特性を考慮すると(1)~(3)の症状は, りん酸の異常蓄積による直接害ではない可能性がある. りん酸は亜鉛, 鉄, 銅などと拮抗作用があるため, 過剰に施用するとこれら要素の欠乏を誘発することがある^{5, 15)}. 亜鉛, 鉄とも欠乏すると葉が黄色~黄白色になるが, 亜鉛では下葉から次第に上葉に及ぶのに対し, 鉄欠乏では生長のおう盛な新葉から発生する⁴⁾. 症状 1 あるいは 2 の葉色異常は, 子葉も含めて下葉から順次発生したことから, 亜鉛欠乏による可能性が考えられる. しかし, コマツナでは亜鉛が欠乏すると新葉にはアントシアニンが発生しやすい⁶⁾が, 本試験ではみられなかった. 前述したように, 欠乏症状と異なり, りん酸の過剰症状は従来発生しにくいと考えられていたこともあって, 症状とその発生機構について分かっていないことが多い. りん酸過剰に起因する他要素の障害の他, 多量施肥による塩類濃度障害の可能性もあることから, りん酸以外の必須成分の生理障害確認試験において同様の症状が確認できるか等, 今後さらに検討する必要がある.

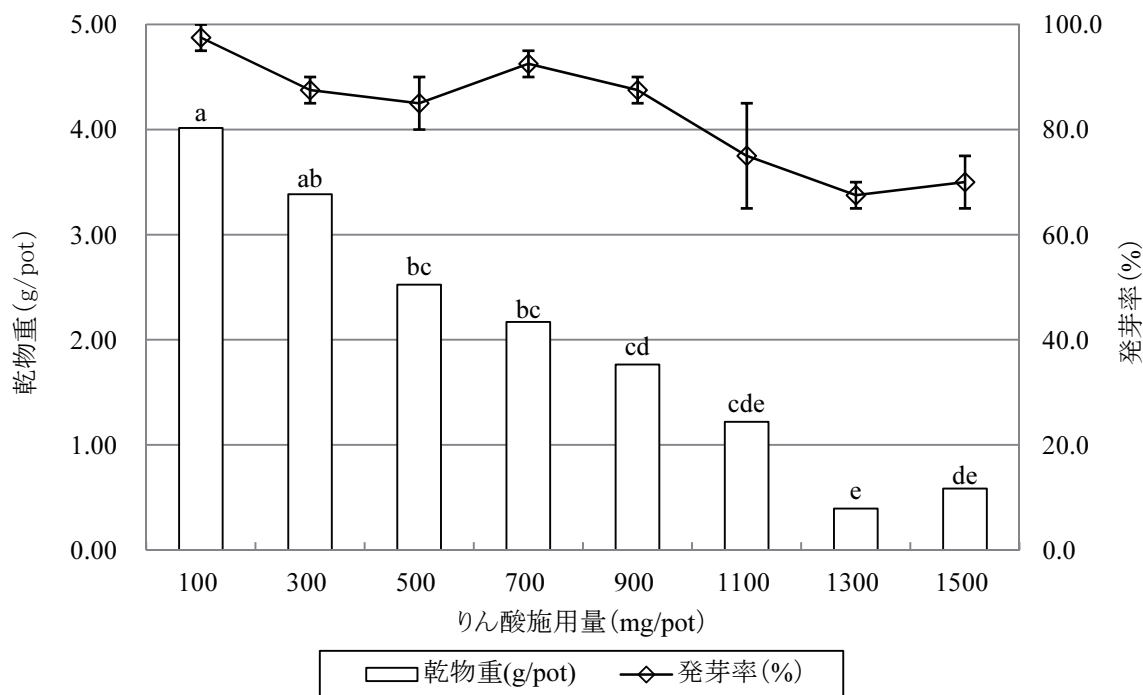


図2 葉体部の乾物重及び発芽率

乾物重の異なる英文字は, 5%水準で有意差有り(Tukeyの方法による).
発芽率のエラーバーは, 2連の各値を示す.

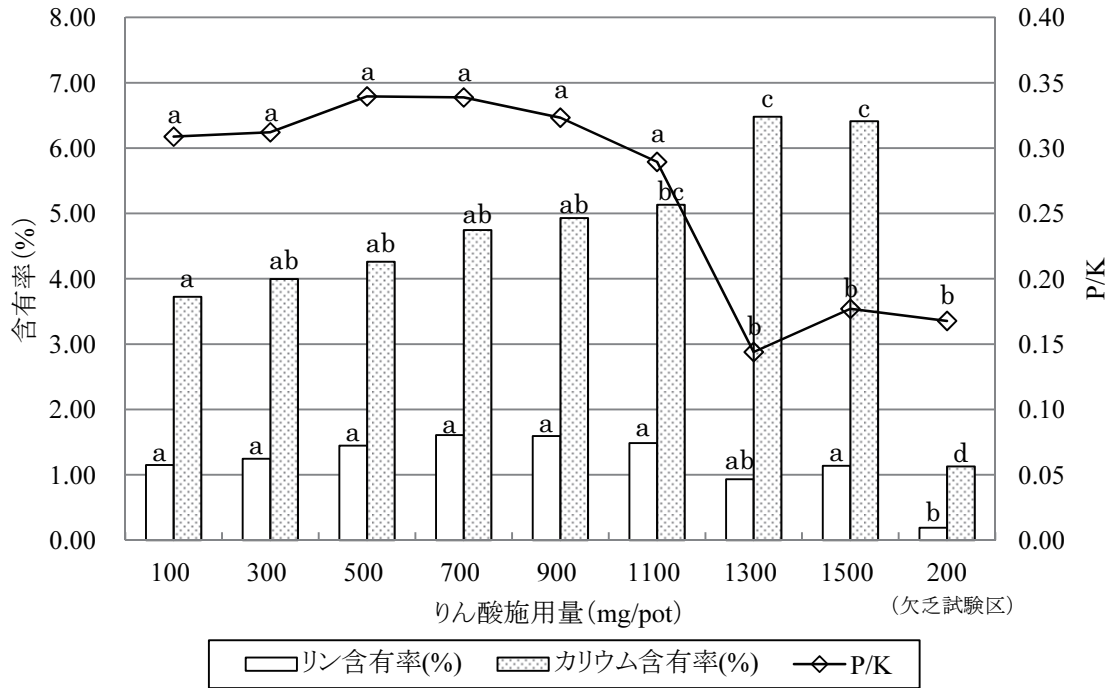


図3 葉体のリン・カリウム含有率(乾物当たり)及びP/K
異なる英文字は、5%水準で有意差有り(Tukeyの方法による)。



(写真 11) 播種 21 日後の様子. りん酸の施用量が増えるに従って, 生育状況が悪化している. 発芽率も同様の傾向がみられることから, 多量施肥による塩類濃度障害と考えられた.



(写真 12) 播種 17 日後の 100 mg 区の様子. 主に 1~2 葉目の葉縁部から脱色が始まり, その後内部に向かって葉脈間で進行した. 生育の良好な低施用量区から順次発生した.



(写真 13) 播種 18 日後の 100 mg 区の様子. 葉脈間の脱色が目立ってきた. 症状は急速に進行した.



(写真 14) 播種 20 日後の 100 mg 区の様子. さらに症状が進行して, 壊死した状態. 写真 12~14 の一連の過程はカリウムの欠乏症状とよく似ている.



(写真 15) 播種 19 日後の 900 mg 区の様子. 100 mg , 200 mg 区以外の試験区でも 1, 2 日遅れて同様の症状が発生した. しかし, 高施用量区の 1300 mg, 1500 mg 区では栽培期間中には発症しなかった. なお, 過剰症状確認試験では, 各区で写真の様に葉幅の広い甲羅状の葉体がよく見られた. リン酸を多く吸収した時の 1 つの目安と考えられた.



(写真 16) 播種 13 日後の 100 mg 区(左側)と 1100 mg 区(右側)の比較. 1100 mg 区で子葉全体が黄緑色を呈した. 子葉ほどではないが, 本葉の緑色も薄くなった.



(写真 17) 播種 13 日後の 300 mg 区の様子. 本葉周辺部の淡緑色化は, 300 mg 区以降で見られたが, 背景となる緑色が濃い 300 mg, 500 mg 区で特に明瞭であった. 2 葉目以降についてもある程度の大きさになると発症した.



(写真 18) 播種 12 日後の 1300 mg 区の様子. 高施用量区では, 塩類濃度障害と考えられる子葉の枯れも見られたことから, 白色斑点群はその軽い症状とも考えられる. 原因についてはさらに検討する必要がある.

4. まとめ

植害試験で発生した症状を正確に判定するための基礎資料作成を目的として, コマツナを用いて, りん酸の欠乏症状及び過剰症状確認試験を実施した. 欠乏症状確認試験では, 供試土壌として黒ボク土(可給態りん酸 2.7 mg/100 g 乾土, りん酸吸収係数 2290)を用い, 過りん酸石灰を P_2O_5 として 1 ポット当たり 0 mg~200 mg まで段階的に施用して, 24 日間栽培した. 過剰症状確認試験では, 褐色低地土(可給態りん酸 121 mg/100 g 乾土, りん酸吸収係数 320)を用い, りん酸二水素カルシウムを P_2O_5 として 1 ポット当たり 100 mg~1500 mg まで段階的に施用して, 21 日間栽培した. 欠乏症状確認試験では, (1) 葉体の生育不良, (2) 根毛の未発達, (3) 下葉の赤紫色化の 3 症状を確認した. (1)~(2)の症状は, りん酸欠乏による原形質(核酸, 核タンパク質, 原形質膜のりん脂質)の障害及び炭酸同化等のエネルギー代謝の障害が原因と考えられた. また, りん酸 0 mg, 10 mg 区に 0.3 %りん酸 1 カリウム溶液を葉面散布したところ, 明確な生育状況の改善がみられた. りん酸欠乏と疑われる生育不良の確認方法として葉面散布の有効性が実証できた. (3)の症状については, 成長の盛んな新葉部にりん酸が移動して下葉の糖りん酸エステルが不足したため, 炭水化物がエネルギー源として利用されなくなり, 未利用の糖分とアントシアニンとが結合してアントシアニンを生成したことが原因と考えられた.

過剰症状確認試験では, (1) 下葉の脱色及び壊死, (2) 黄緑色の葉, (3) 本葉周辺部の淡緑色化, (4) 子葉の白色斑点群の 4 症状を確認した. (1) の症状については, 下葉にりん酸が異常蓄積したことを発端として, りん酸とカリウムの相対的なバランスがくずれたことが原因と推察された. (2)~(4) の症状については, りん酸による直接害の他, りん酸過剰に起因する他要素の障害, 多量施肥による塩類濃度障害等の可能性もあることから, 今後さらに検討する必要がある.

文 献

- 1) 農林水産省農蚕園芸局長通知：肥料取締法の一部改正に伴う今後の肥料取締りについて，別添 1，植物に対する害に関する栽培試験，昭和 59 年 4 月 18 日，59 農蚕第 1943 号 (1984)
- 2) 農林水産省告示：肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件，昭和 61 年 2 月 22 日，農林水産省告示第 284 号，最終改正平成 24 年 8 月 8 日，農林水産省告示第 1985 号 (2012)
- 3) 位田藤久太郎：最新園芸技術 5 野菜の栄養生理と施肥技術，p.19~22，誠文堂新光社，東京(1968)
- 4) 麻生末雄，麻生昇平，松崎敏英：作物の栄養と肥料，p.12~19，p.142~169，東京農業大学，東京 (1973)
- 5) 高橋英一，吉野実，前田正男：新版 原色 作物の要素欠乏・過剰症，p.90~95，農山漁村文化協会，東京 (1980)
- 6) 清水武：原色 要素障害診断事典，p.13~15，p.52~53，農山漁村文化協会，東京 (1990)
- 7) 山根一郎：改訂版 土壌学の基礎と応用，p.111~116，農山漁村文化協会，東京 (1982)
- 8) 八槇敦：土壌診断生育診断大事典，p.145~148，農山漁村文化協会，東京 (2009)
- 9) 渡辺和彦：土壌診断生育診断大事典，p.876~877，農山漁村文化協会，東京 (2009)
- 10) 阿部文浩，恵智正宏：コマツナの生理障害－窒素－，肥料研究報告，**5**，147~155 (2012)
- 11) 林康人，加藤雅彦，小林新，久保省三：点滴灌水施肥栽培における土壌の養分含量を考慮したリン酸の適正施肥，日本土壌肥料学雑誌，**77**(5)，555~561 (2006)
- 12) 川合貴雄，小野芳郎，内藤恭典：リン酸過剰による高温下でのダイコンの葉枯れ障害，岡山県立農業試験場研究報告，**11**，47~56 (1993)
- 13) 猿田正暁，高橋哲夫：りん酸の過剰施用によるキャベツの異常症状，群馬県園芸試験場報告，**12**，56~58 (1984)
- 14) 米山忠克，建部雅子，南條正巳：作物種・土壌処理と作物のリン吸収，日本土壌肥料学雑誌，**61**(4)，376~381 (1990)
- 15) 二見敬三，藤井浩：土壌蓄積リン酸が大豆の生産性と養分吸収に及ぼす影響，兵庫県農業総合センター研究報告，**33**，21~26 (1985)

Physiological disorder of Komatsuna —Phosphorus—

Taku FUJITA¹

¹Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

This study was intended to observe the phosphorus deficiency symptoms and phosphorus excess symptoms about Komatsuna (*Brassica rapa var. perviridis*). The phosphorus deficiency symptom was to observe the color of the veins of the backside of the lower leaves changed in purple-red mainly. For sugar phosphate ester having been short, carbohydrates were not used as an energy source, and it was regarded that it was caused that anthocyanidin was combined with unused sugar, and anthocyanin was formed. As other symptoms, it were observed the poor growth of the leaves and undeveloped of the root hairs. These symptoms were improved by spray application on leaves of potassium dihydrogenphosphate solution. In the phosphorus excessive symptoms confirmation examination, the decoloration of the lower leaves, furthermore, necrotic symptom was observed. As for these causes, it was guessed that relative balance of phosphorus and potassium failed by phosphorus having accumulated on the lower leaf abnormally. As other symptoms, it were observed the color of the leaves changed in yellow green, the color of the peripheral parts of the true leaves changed in light green, and the cotyledonary white spot group. About these symptoms, it is necessary to examine the possibility such as the obstacle of other elements due to a phosphorus surplus, the high salts obstacle by the large quantity fertilization in future other than direct harm of phosphorus.

Key words phosphorus deficiency symptoms, phosphorus excess symptoms, purple-red of the lower leaves, decoloration and necrosis of the lower leaves

(Research Report of Fertilizer, **6**, 117~129, 2013)

11 アンモニア性窒素試験法の性能調査

—蒸留法—

加藤公栄¹, 千田正樹¹, 渡部絵里菜¹

キーワード クライテリア・アプローチ, アンモニア性窒素, 蒸留法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準(criteria)を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ(Criteria Approach)と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法(1992年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 主成分として規定されている^{5, 6)}窒素(N)について, アンモニア性窒素(A-N)の蒸留法の精確さ等の性能を調査したので報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には窒素が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表 1 のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 粒状の試薬についてはミルを用いて粉碎した. 流通している肥料の配合割合を参考に表 2 のとおり試薬を混合し, アンモニア性窒素(A-N)として質量分率 0.2%~10%含有する試料を調製した. また, 試薬を水に溶かしてアンモニア性窒素(A-N)として質量分率 0.02%含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 水蒸気蒸留装置
- (2) 電位差自動滴定装置: 京都電子工業 AT510

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

表1 試料の調製に使用する試薬

| 使用する試薬 | | 対応する原材料名 | |
|----------------|--------------|-------------|-----|
| 名称 | 規格 | 名称又は種類名(材料) | 慣用名 |
| 硫酸アンモニウム | JIS K8960 特級 | 硫酸アンモニア | 硫安 |
| りん酸水素カルシウム二水和物 | 特級 | 重過りん酸石灰 | 重過石 |
| りん酸二水素カリウム | JIS K9007 特級 | りん酸一加里 | |
| りん酸水素二カリウム | JIS K9017 特級 | りん酸二加里 | |
| 硫酸カリウム | JIS K8962 特級 | 硫酸加里 | 硫加 |
| 塩化カリウム | JIS K8121 特級 | 塩化加里 | 塩加 |
| 硫酸カルシウム二水和物 | JIS K8963 特級 | 組成均一化促進材 | 石膏 |

表2 試験に用いた試料の配合割合 (質量分率:%)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | 定量下限確認用試料 | |
|----------------|---------|-------|-----------|----------|
| | A-N-10 | A-N-1 | A-N-0.2 | A-N-0.02 |
| 硫酸アンモニウム | 47.17 | 4.72 | 0.944 | 0.094 |
| りん酸水素カルシウム二水和物 | 20.00 | 10.00 | 25.000 | |
| りん酸二水素カリウム | 10.00 | 10.00 | | 2.500 |
| りん酸水素二カリウム | | 10.00 | 5.000 | |
| 硫酸カリウム | 5.00 | 10.00 | 15.000 | 2.500 |
| 塩化カリウム | | 10.00 | 15.000 | |
| 硫酸カルシウム二水和物 | 17.83 | 45.28 | 39.056 | |
| 水 | | | | 94.906 |
| A-N含有量 | 10.00 | 1.00 | 0.200 | 0.020 |

3) 試薬の調製

- (1) 水: 水精製装置(日本ミリポア Milli-Q DIRECT8)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。
- (2) 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液: 水約 30 mL をポリエチレン瓶にとり, 冷却しながら JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 35 g を少量ずつ加えて溶かし, 密栓して 4~5 日間放置した後, その上澄み液 5.5 mL~11 mL を共栓保存容器にとり, 炭酸を含まない水 1,000 mL を加えた。

標定: JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質のアミド硫酸をデシケーター中に 2 kPa 以下で約 48 時間放置して乾燥した後, 約 2.5 g をひょう量皿にとり, その質量を 0.1 mg のけたまで測定。少量の水で溶かし, 全量フラスコ 250 mL に移し入れ, 標線まで水を加えた。この液一定量を三角フラスコ 200 mL にとり, 指示薬としてブロモチモールブルー溶液 (0.1 mg/100 mL) 数滴を加え, 0.1~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が緑色になるまで滴定し, 次の式によって 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクターを算出した。

$$0.1 \text{ mol/L} \sim 0.2 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター } (f) \\ = (W \times A \times 0.01/97.095) \times (V_1/V_2) \times (1,000/V_3) \times (1/C)$$

W: 採取したアミド硫酸の質量 (g)

A: アミド硫酸の純度 (%(質量分率))

- V_1 : 分取したアミド硫酸溶液の容量 (mL)
 V_2 : アミド硫酸溶液の定容量 (250 mL)
 V_3 : 滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量 (mL)
 C : 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度 (mol/L)

(3) 0.25 mol/L 硫酸: 硫酸約 14 mL をあらかじめ水 100 mL を入れたビーカーに加えて良くかき混ぜ、水で 1,000 mL とした。

標定: 0.25 mol/L 硫酸一定量を三角フラスコ 200 mL にとり、メチルレッド-メチレンブルー混合溶液数滴を加え、0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が灰緑色になるまで滴定し、次の式によって 0.25 mol/L 硫酸 1 mL に相当する 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量を算出した。

$$\begin{aligned}
 &0.25 \text{ mol/L 硫酸 } 1 \text{ mL に相当する } 0.1 \text{ mol/L} \sim 0.2 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量 (B)} \\
 &= V_4/V_5
 \end{aligned}$$

- V_4 : 滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量 (mL)
 V_5 : 標定に供した 0.25 mol/L 硫酸の容量 (mL)

- (4) メチルレッド溶液 (0.1 g/100 mL): JIS K 8896 に規定するメチルレッド 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール (95) 100 mL に溶かした。
- (5) メチレンブルー溶液 (0.1 g/100 mL): JIS K 8897 に規定するメチレンブルー 0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール (95) 100 mL に溶かした。
- (6) メチルレッド-メチレンブルー混合溶液: メチルレッド溶液 (0.1 g/100 mL) 2 容量に対し、メチレンブルー溶液 (0.1 g/100 mL) 1 容量を加えた。
- (7) その他の試薬: 肥料等試験法³⁾に従った。

4) 試験成分及び試験方法

アンモニア性窒素 (A-N) の抽出及び測定は表 3 のとおり肥料等試験法³⁾の試験方法を用いた。なお、参考のため、試験法のフローシート(図 1)を示した。

表3 試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 肥料等試験法の項目 |
|----------------|-------------|
| アンモニア性窒素 (A-N) | 4.1.2.a 蒸留法 |

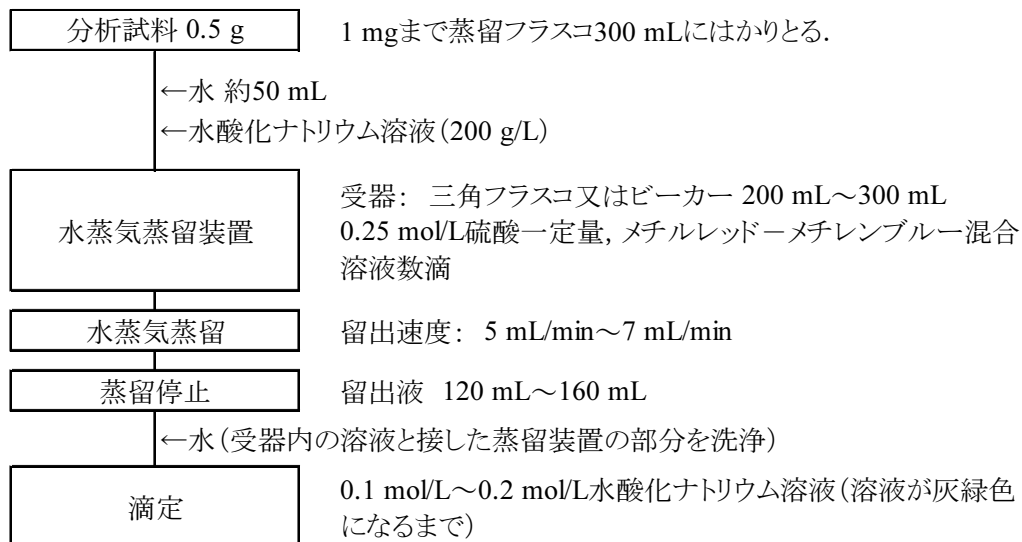


図1 肥料中のアンモニア性窒素試験法フローシート

3. 結果および考察

1) 試料の調製に用いた硫酸アンモニウム中の窒素含有量

試料の調製に用いた硫酸アンモニウム中の窒素の含有量を肥料等試験法(アンモニア性窒素:表3参照)により3点併行で測定した結果を表4に示した。平均値より算出した理論値に対する割合は質量分率100.2%と試薬の表示値(min.99.5%)を満たしており,その相対標準偏差は0.5%と小さかった。このことから,試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った。

表4 試料の調製に用いた硫酸アンモニウム中の窒素の測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾ | 標準偏差 (%) ⁴⁾ | 理論値に 対する割合 ³⁾ (%) | 相対標 準偏差 (%) |
|----------|--|--|---------------------------|------------------------------------|-------------------|
| 硫酸アンモニウム | 21.20 | 21.25 | 0.11 | 100.2 | 0.5 |

1) 硫酸アンモニウム中の窒素(N)理論値

2) アンモニア性窒素(A-N)の3点併行試験の平均値

3) (平均値/理論値)×100

4) 質量分率

2) 真度評価結果

真度評価用試料(表2)を用いて3点併行でアンモニア性窒素(A-N)の試験を実施した成績を表5に示した。

肥料取締法⁷⁾において,保証成分量(含有する主成分の最小量)を生産業者保証票又は輸入業者保証票(以下,「保証票」という)に記載することを普通肥料(污泥肥料等を除く)の生産又は輸入した業者(以下,「生産業者等」という)に義務づけている。よって,アンモニア性窒素(A-N)の設計値と当該試験法の測定値の差について算出した。アンモニア性窒素(A-N)として質量分率1%~10%含有する試料について当該試験法で測定したところ,設計値と測定値との差は質量分率0.02%~0.08%であり,設計値に対する回収率は,100.8%~102.5%であった。このことから,この試験法は,普通肥料(指定配合肥料を含む)のアンモニア性窒素(A-N)の保証成分量の評価を得るに十分な正確さを有していたことが確認された。

なお, AOAC⁸⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 100 %で 98 %~101 %, 質量分率 10 %で 95 %~102 %及び質量分率 1 %で 92 %~105 %であり, 参考のため比較したところアンモニア性窒素 (A-N) のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中のアンモニア性窒素 (AN) の試験成績

| 試験成分 | 試料 | 設計値 | 測定値 | 設計値と の差 | 差の割合 | 回収率 | 標準偏差 | 相対 標準偏差 |
|------|--------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------|
| | | A ¹⁾ (%) ²⁾ | B ³⁾ (%) ²⁾ | C ⁴⁾ (%) ²⁾ | D ⁵⁾ (%) | E ⁶⁾ (%) | F ⁷⁾ (%) ²⁾ | G ⁸⁾ (%) |
| A-N | A-N-10 | 10.00 | 10.08 | 0.08 | 0.8 | 100.8 | 0.03 | 0.3 |
| | A-N-1 | 1.00 | 1.02 | 0.02 | 2.5 | 102.5 | 0.02 | 1.6 |

- 1) 試料中のアンモニア性窒素 (AN) の含有量 (設計値)
- 2) 質量分率
- 3) 3点併行試験の平均値
- 4) $C = B - A$
- 5) $D = (C / A) \times 100$
- 6) $E = (B / A) \times 100$
- 7) 3点併行試験の標準偏差
- 8) $G = (F / B) \times 100$

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料 (表 2) を用いて 7 点併行でアンモニア性窒素 (A-N) の試験を実施し, その結果を表 6 に示した。なお, 定量下限は「(標準偏差)×10」式, また, 検出下限は「(標準偏差)×2×t(n-1,0.05)」式を用いて算出した⁹⁾。

普通肥料の公定規格¹⁰⁾において普通肥料 (汚泥肥料等及び家庭園芸用複合肥料を除く。以下同じ。) の含有すべき主成分の最小量はアンモニア性窒素 (A-N) として質量分率 1.0 %と, 家庭園芸用複合肥料の含有すべき主成分の最小量はアンモニア性窒素 (A-N) として質量分率 0.1 %と, 肥料取締法施行規則¹¹⁾において指定配合肥料 (家庭園芸用肥料を除く。) の保証成分量の最小量はアンモニア性窒素 (A-N) として 1.0 %と, 指定配合肥料 (家庭園芸用肥料に限る。) の保証成分量の最小量はアンモニア性窒素 (A-N) として質量分率 0.1 %とそれぞれ規定されている。さらに, アンモニア性窒素 (A-N) の保証成分量が質量分率 0.1 %~0.5 %として登録されている家庭園芸用複合肥料の多くが液状肥料である。

A-N-0.2 %の推定定量下限値は質量分率 0.10 %, 推定検出下限値は質量分率 0.04 %であることから, 表 3 に記載した試験法は, 公定規格における普通肥料, 指定配合肥料 (家庭園芸用肥料を除く。) のアンモニア性窒素 (A-N) の含有量の評価を得るに十分な定量範囲を有していることが確認された。

また, A-N-0.02 %の推定定量下限値は質量分率 0.1 %, 推定検出下限値は質量分率 0.04 %であったことから, 表 7 のとおり試料採取量を 5 g として 7 点併行で試験を実施したところ, 推定定量下限値は質量分率 0.006 %, 推定検出下限値は質量分率 0.002 %であった。

このことから, 表 3 に記載した試験法は, 試料採取量を 5 g とすることで, 家庭園芸用複合肥料及び指定配合肥料 (家庭園芸用に限る。) のアンモニア性窒素の含有量の評価を得るに十分な定量範囲を有していることが確認された。

表6 定量下限確認試験の成績 (質量分率:%)

| 試験成分 | 試料 | 設計値 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ | 標準偏差 | 推定定量 下限値 ³⁾ | 推定検出 下限値 ⁴⁾ |
|------|------------------------|-------------------|-------------------|--------|---------------------------|---------------------------|
| A-N | A-N-0.2 ⁵⁾ | 0.2 | 0.202 | 0.010 | 0.1 | 0.04 |
| A-N | A-N-0.02 ⁶⁾ | 0.02 | 0.0256 | 0.0096 | 0.1 | 0.04 |

- 1) 試料中の窒素(N)の含有量(設計値)
- 2) 7点併行試験の平均値
- 3) 標準偏差×10
- 4) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)
- 5) 粉状試料
- 6) 液状試料

表7 定量下限確認試験の成績 (試料採取量: 5 g) (質量分率:%)

| 試験成分 | 試料 | 設計値 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ | 標準偏差 | 推定定量 下限値 ³⁾ | 推定検出 下限値 ⁴⁾ |
|------|------------------------|-------------------|-------------------|--------|---------------------------|---------------------------|
| A-N | A-N-0.02 ⁵⁾ | 0.02 | 0.0205 | 0.0006 | 0.006 | 0.002 |

- 1) 試料中の窒素(N)の含有量(設計値)
- 2) 7点併行試験の平均値
- 3) 標準偏差×10
- 4) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)
- 5) 液状試料

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、既報の外部精度管理試験¹²⁾のうち該当する試験法で実施された成績^{13~16)}及び認証標準物質の値付けのための共同試験¹⁷⁾の成績¹⁸⁾を適用することとし、それらの成績を表8及び表9に示した。なお、外部精度管理試験では、ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差(NIQR)が算出されている。中央値及びNIQRは正規分布において平均値及び標準偏差に一致する。

アンモニア性窒素(A-N)の中央値又は平均値が質量分率5.56%~13.49%の範囲でその標準化された四分位範囲又は室間再現標準偏差は質量分率0.07%~0.18%、その相対標準偏差は1.2%~1.8%であった。また、アンモニア性窒素(A-N)の試験成績のHorRat値は0.43~0.61であった。

なお、AOAC(OMA)⁸⁾における濃度レベルにおける室間再現精度の目安は濃度100%で2%、濃度10%で3%、濃度1%で4%及び濃度0.1%で6%であり、参考のため比較したところアンモニア性窒素(A-N)の室間再現標準偏差はこれらの目安を下回った。

表8 外部精度管理試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験年度 | 試験室数 | 中央値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | NIQR B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|------|----------|------|------|--|---|---|-----------------------------|----------------------------|
| A-N | 有機入り化成肥料 | 2007 | 143 | 6.20 | 0.09 | 1.4 | 3.0 | 0.47 |
| | 高度化成肥料 | 2008 | 147 | 12.56 | 0.16 | 1.2 | 2.7 | 0.45 |
| | 普通化成肥料 | 2009 | 144 | 5.56 | 0.07 | 1.3 | 3.1 | 0.43 |
| | 高度化成肥料 | 2011 | 138 | 13.49 | 0.18 | 1.3 | 2.7 | 0.49 |

- 1) 中央値
- 2) 質量分率
- 3) ロバスト標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

表9 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験年度 | 試験室数 | 平均値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | SD _R B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|------|--------|------|------|--|--|---|-----------------------------|----------------------------|
| A-N | 高度化成肥料 | 2010 | 11 | 8.38 | 0.15 | 1.8 | 2.9 | 0.61 |

- 1) 認証値
- 2) 質量分率
- 3) 室間再現標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

4. まとめ

アンモニア性窒素(A-N)の蒸留法の真度、定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ、次の結果を得た。

(1) アンモニア性窒素(A-N)として質量分率1%～10%含有する試料について当該試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率0.02%～0.08%であり、設計値に対する回収率は100.8%～102.5%であった。

(2) 粉状試料(A-Nとして質量分率0.2%)を用いて定量下限及び検出下限を分析試料0.5gで確認したところ、質量分率0.1%及び0.04%と推察された。また、液状試料(A-Nとして質量分率0.02%)の定量下限及び検出下限は、分析試料5gで質量分率0.006%及び0.002%と推察された。

(3) 外部精度管理試験及び肥料認証標準物質の値付けのための共同試験より室間再現精度を調査したところ、アンモニア性窒素(A-N)は、中央値又は平均値が質量分率5.56%～13.49%の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率0.07%～0.18%、その相対標準偏差は1.2%～1.8%であった。

(1)～(3)の成績は、肥料等試験法に記載された試験法が主要な成分としてのアンモニア性窒素(A-N)の含有量を評価することができる性能を有していると示しており、クライテリア・アプローチにおける試験法の性能規準の資料に適用できると考えられる。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<[ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf](http://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf)>
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) : 肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法(1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 5) 肥料取締法施行令, 昭和25年6月20日, 政令第198号, 最終改平成18年3月23日, 政令第51号 (2006)
- 6) 農林水産省告示: 肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和59年3月16日, 農林水産省告示第695号, 最終改正平成11年5月13日, 農林水産省告示第704号 (1999)
- 7) 肥料取締法: 昭和25年5月1日, 法律第127号, 最終改平成23年8月30日, 法律第105号(2011)
- 8) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
<http://www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf>
- 9) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
<www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>
- 10) 農林水産省告示: 肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和61年2月22日, 農林水産省告示第284号, 最終改正平成24年8月8日, 農林省告示第1985号 (2012)
- 11) 農林水産省令: 肥料取締法施行規則, 昭和25年6月20日, 農林水産省令第64号, 最終改正平成24年8月8日, 農林水産省令第44号 (2012)
- 12) ISO 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons” (JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」)
- 13) 高橋雄一, 加藤公栄, 井塚進次郎, 清水 昭, 松崎 学, 井上智江, 内山 丈, 白井裕治, 杉原 進: 2007年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **1**, 152～167 (2008)
- 14) 高橋雄一, 加藤公栄, 井塚進次郎, 清水 昭, 井上智江, 内山 丈, 白井裕治, 上沢正志: 2008年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **2**, 97～115 (2009)
- 15) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 井上智江, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志: 2009年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **3**, 73～94 (2010)
- 16) 恵智正宏, 渡部絵里菜, 小西範英, 阿部 進, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志: 2011年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **5**, 68～88 (2012)
- 17) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 18) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人: 2010年度 肥料認証標準物質の開発, 肥料研究報告, **4**, 107～120 (2011)

Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Ammonia Nitrogen Content in Fertilizer by Distillation Method

Kimie KATO¹, Masaki CHIDA¹ and Erina WATANABE¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

We verified performance characteristics of testing methods for ammonia nitrogen (A-N) by distillation method described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for ammonia nitrogen was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 1 % ~ 10 % ammonia nitrogen which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 100.8 % to 102.5 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.1 % and 0.006 %, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, medians, normalize interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of ammonia nitrogen obtained by proficiency testings were 5.56 % ~ 13.49 %, 0.07 % ~ 0.18 % and 1.2 % ~ 1.8 %, respectively. And mean values, standard deviations (SD_R) for reproducibility and RSD_R of ammonia nitrogen obtained by collaborative studies were 8.38 %, 0.15 % and 1.8 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of ammonia nitrogen.

Key words criteria approach, ammonia nitrogen, distillation method, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, 6, 130~138, 2013)

12 アンモニア性窒素試験法の性能調査

—ホルムアルデヒド法—

加藤公栄¹, 千田正樹¹, 渡部絵里菜¹

キーワード クライテリア・アプローチ, アンモニア性窒素, ホルムアルデヒド法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準(criteria)を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ(Criteria Approach)と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法(1992年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 主成分として規定されている^{5, 6)}窒素(N)について, アンモニア性窒素(A-N)のホルムアルデヒド法の精確さ等の性能を調査したので報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には窒素が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表 1 のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 粒状の試薬についてはミルを用いて粉碎した. 流通している肥料の配合割合を参考に表 2 のとおり試薬を混合し, アンモニア性窒素(A-N)として質量分率 0.2%~10%含有する試料を調製した. また, 試薬を水に溶かしてアンモニア性窒素(A-N)として質量分率 0.02%含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 回転振り混ぜ機: 池田理化 EFN00-KT

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

表1 試料の調製に使用する試薬

| 使用する試薬 | | 対応する原材料名 | |
|----------------|--------------|-------------|-----|
| 名称 | 規格 | 名称又は種類名(材料) | 慣用名 |
| 硫酸アンモニウム | JIS K8960 特級 | 硫酸アンモニア | 硫安 |
| りん酸水素カルシウム二水和物 | 特級 | 重過りん酸石灰 | 重過石 |
| りん酸二水素カリウム | JIS K9007 特級 | りん酸一加里 | |
| りん酸水素二カリウム | JIS K9017 特級 | りん酸二加里 | |
| 硫酸カリウム | JIS K8962 特級 | 硫酸加里 | 硫加 |
| 塩化カリウム | JIS K8121 特級 | 塩化加里 | 塩加 |
| 硫酸カルシウム二水和物 | JIS K8963 特級 | 組成均一化促進材 | 石膏 |

表2 試験に用いた試料の配合割合 (質量分率:%)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | 定量下限確認用試料 | |
|----------------|---------|-------|-----------|----------|
| | A-N-10 | A-N-1 | A-N-0.2 | A-N-0.02 |
| 硫酸アンモニウム | 47.17 | 4.72 | 0.944 | 0.094 |
| りん酸水素カルシウム二水和物 | 20.00 | 10.00 | 25.000 | |
| りん酸二水素カリウム | 10.00 | 10.00 | | 2.500 |
| りん酸水素二カリウム | | 10.00 | 5.000 | |
| 硫酸カリウム | 5.00 | 10.00 | 15.000 | 2.500 |
| 塩化カリウム | | 10.00 | 15.000 | |
| 硫酸カルシウム二水和物 | 17.83 | 45.28 | 39.056 | |
| 水 | | | | 94.906 |
| A-N含有量 | 10.00 | 1.00 | 0.200 | 0.020 |

3) 試薬の調製

- (1) 水: 水精製装置(日本ミリポア Milli-Q DIRECT8)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。
- (2) 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液: 水約 30mL をポリエチレン瓶にとり、冷却しながら JIS K 8576 に規定する水酸化ナトリウム約 35g を少量ずつ加えて溶かし、密栓して 4~5 日間放置した後、その上澄み液 5.5~11mL を共栓保存容器にとり、炭酸を含まない水 1,000mL を加えた。

標定: JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質のアミド硫酸をデシケーター中に 2 kPa 以下で約 48 時間放置して乾燥した後、約 2.5 g をひょう量皿にとり、その質量を 0.1 mg のけたまで測定。少量の水で溶かし、全量フラスコ 250 mL に移し入れ、標線まで水を加えた。この液一定量を三角フラスコ 200 mL にとり、指示薬としてブロモチモールブルー溶液 (0.1 mg/100 mL) 数滴を加え、0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で溶液の色が緑色になるまで滴定し、次の式によって 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクターを算出した。

$$0.1 \text{ mol/L} \sim 0.2 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター (f)} \\ = (W \times A \times 0.01/97.095) \times (V_1/V_2) \times (1,000/V_3) \times (1/C)$$

W: 採取したアミド硫酸の質量 (g)

A: アミド硫酸の純度 (%)

- V_1 : 分取したアミド硫酸溶液の容量 (mL)
 V_2 : アミド硫酸溶液の定容量 (250 mL)
 V_3 : 滴定に要した 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の容量 (mL)
 C: 0.1 mol/L~0.2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液の設定濃度 (mol/L)

- (3) 塩化カリウム溶液 (1 mol/L): JIS K 8121 に規定する塩化カリウム75 g を水に溶かして1,000 mL とした.
- (4) 塩化アルミニウム溶液 (1 mol/L): JIS K 8114 に規定する塩化アルミニウム240 g を水に溶かして 1,000 mL とした.
- (5) 水酸化カリウム溶液 (170 g/L): 水酸化カリウム170 g を水に溶かして1,000 mL とした.
- (6) ホルムアルデヒド溶液: JIS K 8872 に規定する36 % (質量分率)~38 % (質量分率)ホルムアルデヒド液1 容量に対し, 水1 容量を加えた.
- (7) 塩酸: JIS K 8180 に規定する特級又は同等の品質の試薬.
- (8) ブロモチモールブルー溶液 (0.1 g/100 mL): JIS K 8842 に規定するブロモチモールブルー0.1 g を JIS K 8102 に規定するエタノール (95) 20 mL で溶かし, 水で100 mL とした.
- (9) メチルレッド溶液 (0.1 g/100 mL): JIS K 8896 に規定するメチルレッド0.1 g をJIS K 8102 に規定するエタノール (95) 100 mL に溶かした.
- (10) チモールブルー溶液 (1 g/100 mL): チモールブルー (ナトリウム塩) 1 g をJIS K 8102 に規定するエタノール (95) 20 mLで溶かし, 水で100 mLとした.

4) 試験成分及び試験方法

アンモニア性窒素 (A-N) の抽出及び測定は表3 のとおり肥料等試験法³⁾の試験方法を用いた. なお, 参考のため, 試験法のフローシート (図 1) を示した.

表3 試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 肥料等試験法の項目 | 試料溶液の抽出方法 |
|----------------|-------------------|--------------------------|
| アンモニア性窒素 (A-N) | 4.1.2.b ホルムアルデヒド法 | 塩化カリウム溶液 (1 mol/L) 回転振とう |

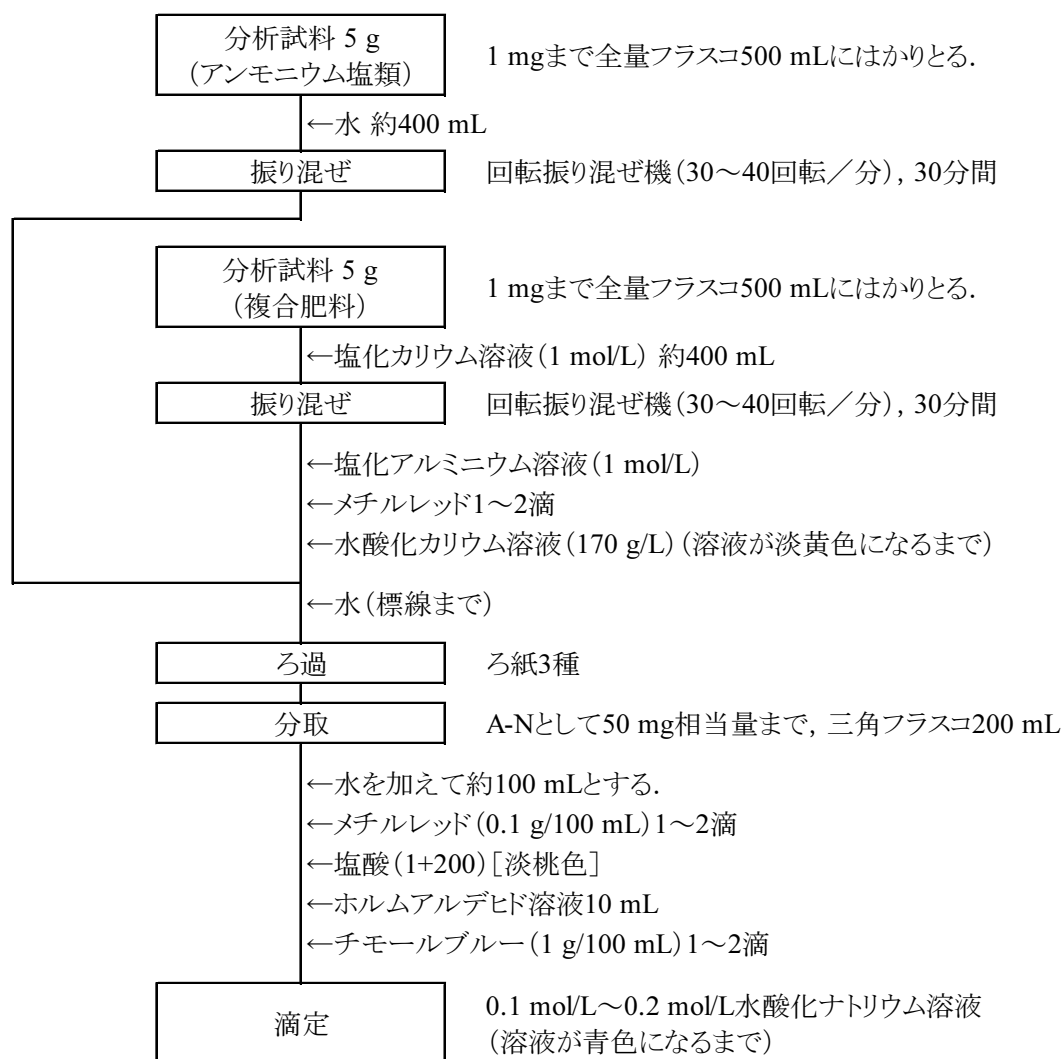


図1 肥料中のアンモニア性窒素試験法フローシート

3. 結果および考察

1) 試料の調製に用いた硫酸アンモニウム中の窒素の含有量

試料の調製に用いた硫酸アンモニウムの窒素の含有量を肥料等試験法(アンモニア性窒素:表3)により3点併行で測定した結果を表4に示した. 平均値より算出した理論値に対する割合は100.4%と試薬の表示値(min. 99.5%)を満たしており, その相対標準偏差は0.1%と小さかった. このことから, 試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った.

表4 試料の調製に用いた硫酸アンモニウム中の窒素の測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ | 標準偏差 | 理論値に 対する割合 ³⁾ | 相対標 準偏差 |
|----------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|------------|
| | (%) ⁴⁾ | (%) ⁴⁾ | (%) ⁴⁾ | (%) | (%) |
| 硫酸アンモニウム | 21.20 | 21.28 | 0.01 | 100.4 | 0.1 |

1) 硫酸アンモニウム中の窒素(N)理論値

2) アンモニア性窒素(A-N)の3点併行試験の平均値

3) (平均値/理論値)×100

4) 質量分率

2) 真度評価結果

真度評価用試料(表2)を用いて3点併行でアンモニア性窒素(A-N)の試験を実施した成績を表5に示した。

肥料取締法⁷⁾において、保証成分量(含有する主成分の最小量)を生産業者保証票又は輸入業者保証票(以下、「保証票」という)に記載することを普通肥料(污泥肥料等を除く)の生産又は輸入した業者(以下、「生産業者等」という)に義務づけている。よって、アンモニア性窒素(A-N)の設計値と試験法の測定値の差について算出した。アンモニア性窒素(A-N)として質量分率1%~10%含有する試料について当該試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率0.00%~0.10%であり、設計値に対する回収率は、100.1%~101.0%であった。このことから、この試験法は、普通肥料(指定配合肥料を含む)のアンモニア性窒素(A-N)の保証成分量の評価を得るに十分な正確さを有していたことが確認された。

なお、AOAC⁹⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲内は質量分率100%で98%~101%、質量分率10%で95%~102%及び質量分率1%で92%~105%であり、参考のため比較したところアンモニア性窒素(A-N)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中のアンモニア性窒素(A-N)の試験成績

| 試験成分 | 試料 | 設計値 | 測定値 | 設計値と の差 | 差の割合 | 回収率 | 標準偏差 | 相対 標準偏差 |
|------|--------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------|
| | | A ¹⁾ (%) ²⁾ | B ³⁾ (%) ²⁾ | C ⁴⁾ (%) ²⁾ | D ⁵⁾ (%) | E ⁶⁾ (%) | F ⁷⁾ (%) ²⁾ | G ⁸⁾ (%) |
| A-N | A-N-10 | 10.00 | 10.10 | 0.10 | 1.0 | 101.0 | 0.01 | 0.1 |
| | A-N-1 | 1.00 | 1.00 | 0.00 | 0.1 | 100.1 | 0.00 | 0.4 |

1) 試料中のアンモニア性窒素(AN)の含有量(設計値)

2) 質量分率

3) 3点併行試験の平均値

4) $C=B-A$

5) $D=(C/A) \times 100$

6) $E=(B/A) \times 100$

7) 3点併行試験の標準偏差

8) $G=(F/B) \times 100$

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料(表2)を用いて7点併行でアンモニア性窒素(A-N)の試験を実施し、その結果を表6に示した。なお、定量下限は(標準偏差)×10式、また、検出下限は(標準偏差)×2×t(n-1,0.05)式を用いて算出した¹⁰⁾。

普通肥料の公定規格¹¹⁾において、普通肥料(汚泥肥料等及び家庭園芸用複合肥料を除く。以下同じ。)の含有すべき主成分の最小量はアンモニア性窒素(A-N)として質量分率 1.0 %と家庭園芸用複合肥料の含有すべき主成分の最小量はアンモニア性窒素(A-N)として質量分率 0.1 %と肥料取締法施行規則¹²⁾

においては、指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く。)の保証成分量の最小値はアンモニア性窒素(A-N)として質量分率 1.0 %と、指定配合肥料(家庭園芸用肥料に限る。)の保証成分量の最小値はアンモニア性窒素(A-N)として質量分率 0.1 %とそれぞれ規定されている。さらに、アンモニア性窒素(A-N)の保証成分量が質量分率 0.1 %~0.5 %として登録されている家庭園芸用複合肥料の多くが液状肥料である。

A-N-0.2 %の推定定量下限値は質量分率 0.03 %、推定検出下限値は質量分率 0.01 %であることから、表 3 に記載した試験法は、公定規格における普通肥料、指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く。)のアンモニア性窒素(A-N)の含有量の評価を得るに十分な定量範囲を有していることが確認された。

また、A-N-0.02 %の推定定量下限値は質量分率 0.02 %、推定検出下限値は質量分率 0.009 %であることが確認された。

表6 定量下限確認試験の成績 (質量分率:%)

| 試験成分 | 試料 | 設計値 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ | 標準偏差 | 推定定量 下限値 ³⁾ | 推定検出 下限値 ⁴⁾ |
|------|----------|-------------------|-------------------|--------|---------------------------|---------------------------|
| A-N | A-N-0.2 | 0.2 | 0.204 | 0.003 | 0.03 | 0.01 |
| | A-N-0.02 | 0.02 | 0.0228 | 0.0024 | 0.02 | 0.009 |

1) 試料中の窒素(N)の含有量(設計値)

2) 7点併行試験の平均値

3) 標準偏差×10

4) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、既報の外部精度管理試験¹³⁾のうち該当する試験法で実施された成績^{14, 15)}及び認証標準物質の値付けのための共同試験¹⁶⁾の成績¹⁷⁾を適用することとし、それらの成績を表 7 及び表 8 に示した。なお、外部精度管理試験では、ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差(NIQR)が算出されている。中央値及び NIQR は正規分布において平均値及び標準偏差に一致する。

アンモニア性窒素(A-N)の中央値又は平均値が質量分率 10.66 %~11.53 %の範囲でその標準化された四分位範囲又は室間再現標準偏差は質量分率 0.10 %~0.18 %、その相対標準偏差は 0.9 %~1.6 %であった。また、アンモニア性窒素(A-N)の試験成績の HorRat 値は 0.33~0.56 であった。

なお、AOAC(OMA)⁸⁾における濃度レベルにおける室間再現精度の目安は濃度 100 %で 2 %、濃度 10 %で 3 %、濃度 1 %で 4 %及び濃度 0.1 %で 6 %であり、参考のため比較したところアンモニア性窒素(A-N)の室間再現標準偏差はこれらの目安を下回った。

表7 外部精度管理試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験 年度 | 試験 室数 | 中央値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | NIQR B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|------|--------|----------|----------|--|---|---|-----------------------------|----------------------------|
| A-N | 普通化成肥料 | 2006 | 150 | 11.46 | 0.10 | 0.9 | 2.8 | 0.33 |
| | 高度化成肥料 | 2010 | 128 | 11.53 | 0.18 | 1.6 | 2.8 | 0.56 |

- 1) 中央値
- 2) 質量分率
- 3) ロバスト標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

表8 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験 年度 | 試験 室数 | 平均値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | SD _R B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|------|--------|----------|----------|--|--|---|-----------------------------|----------------------------|
| A-N | 高度化成肥料 | 2010 | 10 | 10.66 | 0.16 | 1.5 | 2.8 | 0.55 |

- 1) 認証値
- 2) 質量分率
- 3) 室間再現標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

4. まとめ

アンモニア性窒素(A-N)について、ホルムアルデヒド法の真度、定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ、次の結果を得た。

(1) アンモニア性窒素(A-N)として質量分率 1 %～10 %含有する試料について測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率 0.00 %～0.10 %であった。また、設計値に対する回収率は 100.1 %～101.0 %であった。

(2) 粉状試料(A-Nとして質量分率 0.2 %)を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、質量分率 0.03 %及び0.01 %と推察された。また、液状試料(A-Nとして質量分率 0.02 %)の定量下限及び検出下限はそれぞれ質量分率 0.02 %及び 0.009 %程度と推定された。

(3) 外部精度管理試験及び肥料認証標準物質の値付けのための共同試験より室間再現精度を調査したところ、アンモニア性窒素(A-N)は、中央値又は平均値が質量分率 10.66 %～11.53 %の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率 0.10 %～0.18 %、その相対標準偏差は 0.9 %～1.6 %であった。

(1)～(3)の成績は、肥料等試験法に記載された試験法が主要な成分としてのアンモニア性窒素(A-N)の含有量を評価することができる性能を有していると示しており、クライテリア・アプローチにおける試験法の性能規準の資料に適用できると考えられる。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<http://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法 (1992 年版), 日本肥糧検定協会, 東京 (1992)
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 5) 肥料取締法施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改正平成 18 年 3 月 23 日, 政令第 51 号 (2006)
- 6) 農林水産省告示: 肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和 59 年 3 月 16 日, 農林水産省告示第 695 号, 最終改正平成 11 年 5 月 13 日, 農林水産省告示第 704 号 (1999)
- 7) 肥料取締法: 昭和 25 年 5 月 1 日, 法律第 127 号, 最終改正平成 23 年 8 月 30 日, 法律第 105 号 (2011)
- 8) 農林水産省告示: 特殊肥料の品質表示基準, 平成 12 年 8 月 31 日, 農林水産省告示第 1163 号, 最終改正平成 17 年 2 月 28 日, 農林水産省告示第 364 号 (2005)
- 9) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)
- 10) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
- 11) 農林水産省告示: 肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林省告示第 1985 号 (2012)
- 12) 農林水産省令: 肥料取締法施行規則, 昭和 25 年 6 月 20 日, 農林水産省令第 64 号, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林水産省令第 44 号 (2012)
- 13) ISO 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons” (JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」)
- 14) 杉村 靖, 加藤公栄, 齊木雅一, 阿部文浩, 伊藤 潤, 内山 丈, 白井裕治, 引地典雄, 杉原 進: 2006 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **1**, 138~151 (2008)
- 15) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志: 2010 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **4**, 85~106 (2011)
- 16) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 17) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人: 2010 年度 肥料認証標準物質の開発, 肥料研究報告, **4**, 107~120 (2011)

Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Ammonia Nitrogen Content in Fertilizer by Formaldehyde Method

Kimie KATO¹, Masaki CHIDA¹ and Erina WATANABE¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

We verified performance characteristics of testing methods for ammonia nitrogen (A-N) by formaldehyde method described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for ammonia nitrogen was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 1 % ~ 10 % ammonia nitrogen which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 100.1 % to 101.0 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.03 % and 0.02 %, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, medians, normalize interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of ammonia nitrogen obtained by proficiency testings were 10.66 % ~ 11.53 %, 0.10 % ~ 0.18 % and 0.9 % ~ 1.6 %, respectively. And mean values, standard deviations (SD_R) for reproducibility and RSD_R of ammonia nitrogen obtained by collaborative studies were 10.66 %, 0.16 % and 1.5 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a formaldehyde method of ammonia nitrogen.

Key words criteria approach, ammonia nitrogen, formaldehyde method, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **6**, 139~147, 2013)

13 硝酸性窒素試験法の性能調査

—フェノール硫酸法—

加藤公栄¹, 千田正樹¹, 渡部絵里菜¹

キーワード クライテリア・アプローチ, 硝酸性窒素, フェノール硫酸法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準(criteria)を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ(Criteria Approach)と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法(1992年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 主成分として規定されている^{5, 6)}窒素(N)について, 硝酸性窒素(N-N)のフェノール硫酸法の精確さ等の性能を調査したので報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には窒素が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表 1 のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 粒状の試薬についてはミルを用いて粉碎した. 流通している肥料の配合割合を参考に表 2 のとおり試薬を混合し, 硝酸性窒素(N-N)として質量分率 0.2 %~3 %含有する試料を調製した. また, 試薬を水に溶かして硝酸性窒素(N-N)として質量分率 0.02 %含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 回転振り混ぜ機: 池田理化 EFN00-KT
- (2) 分光光度計: 島津製作所 UV-1800
- (3) 水浴: ヤマト科学 BM-41

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

表1 試料の調製に使用する試薬

| 使用する試薬 | | 対応する原材料名 | |
|----------------|--------------|-------------|-------|
| 名称 | 規格 | 名称又は種類名(材料) | 慣用名 |
| 硝酸ナトリウム | JIS K8562 特級 | 硝酸ソーダ | 硝酸ソーダ |
| りん酸水素カルシウム二水和物 | 特級 | 重過りん酸石灰 | 重過石 |
| りん酸二水素カリウム | JIS K9007 特級 | りん酸一加里 | |
| りん酸水素二カリウム | JIS K9017 特級 | りん酸二加里 | |
| 硫酸カリウム | JIS K8962 特級 | 硫酸加里 | 硫加 |
| 塩化カリウム | JIS K8121 特級 | 塩化加里 | 塩加 |
| 硫酸カルシウム二水和物 | JIS K8963 特級 | 組成均一化促進材 | 石膏 |

表2 試験に用いた試料の配合割合 (質量分率:%)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | 定量下限確認用試料 | |
|----------------|---------|-------|-----------|----------|
| | N-N-3 | N-N-1 | N-N-0.2 | N-N-0.02 |
| 硝酸ナトリウム | 18.20 | 6.07 | 1.214 | 0.121 |
| りん酸水素カルシウム二水和物 | 20.00 | 30.00 | 30.000 | |
| りん酸二水素カリウム | 20.00 | 5.00 | 10.000 | 2.500 |
| りん酸水素二カリウム | 10.00 | 5.00 | 20.000 | |
| 硫酸カリウム | 10.00 | 5.00 | 20.000 | 2.500 |
| 塩化カリウム | | 5.00 | | |
| 硫酸カルシウム二水和物 | 21.80 | 43.93 | 18.786 | |
| 水 | | | | 94.879 |
| N-N含有量 | 3.00 | 1.00 | 0.200 | 0.020 |

3) 試薬の調製

- (1) 水：水精製装置(日本ミリポア Milli-Q DIRECT8)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。
- (2) 硝酸塩標準液(N-N 5 mg/mL)：硝酸カリウム(純度 99.9%(質量分率)以上)を 110 °C で 1 時間以上加熱し、デシケーター中で放冷した後、36.09 g をひょう量皿にとった。少量の水で溶かし、全量フラスコ 1000 mL に移し入れ、標線まで水を加えた。
- (3) 硝酸塩標準液(N-N 0.1 mg/mL)：硝酸塩標準液(N-N 5 mg/mL)の一定量を水で希釈し、硝酸塩標準液(N-N 0.1 mg/mL)を調製した。
- (4) 硝酸塩標準液(N-N 0.05 mg/mL)：硝酸塩標準液(N-N 5 mg/mL)の一定量を水で希釈し、硝酸塩標準液(N-N 0.05 mg/mL)を調製した。
- (5) 硫酸銅—硫酸銀溶液：JIS K 8983 に規定する硫酸銅(II)五水和物 5 g を水 900 mL に溶かし、JIS K 8965 に規定する硫酸銀 4 g を加えて溶かした後、1,000 mL とした。
- (6) フェノール硫酸：JIS K 8798 に規定するフェノール 15 g を JIS K 8951 に規定する硫酸 100 mL に加温して溶かし、放冷した。
- (7) その他の試薬：肥料等試験法³⁾に従った。

4) 試験成分及び試験方法

硝酸性窒素(N-N)の抽出及び測定は表3のとおり肥料等試験法³⁾の試験方法を用いた。なお、参考のため、試験法のフローシート(図1)を示した。

表3 試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 肥料等試験法の項目 | 試料溶液の抽出方法 |
|------------|------------------|--|
| 硝酸性窒素(N-N) | 4.1.3.c フェノール硫酸法 | (4.1) 硫酸銅-硫酸銀溶液回転振とう 水酸化カルシウム及び塩基性炭酸マグネシウム回転振とう |

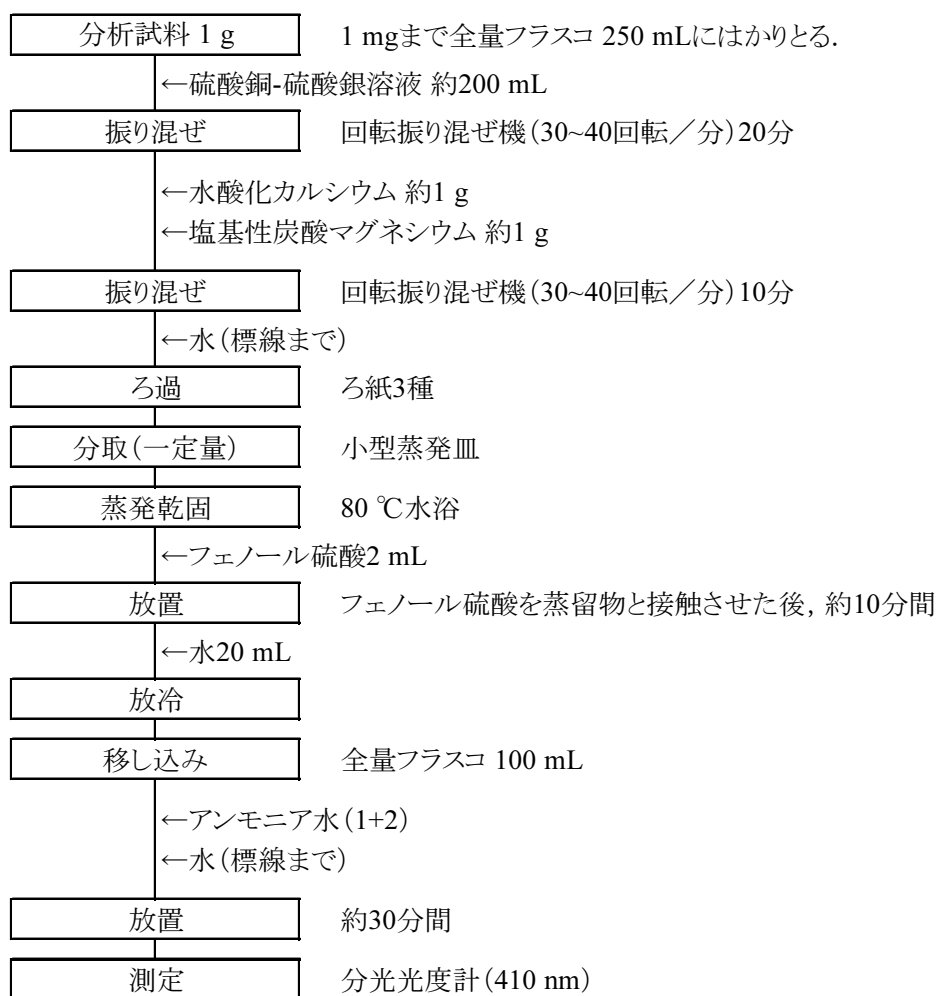


図1 肥料中の硝酸性窒素試験法フローシート

3. 結果及び考察

1) 試料の調製に用いた硝酸ナトリウムの窒素含有量

試料の調製に用いた硝酸ナトリウム中の窒素の含有量を肥料等試験法(硝酸性窒素:表3参照)により3点併行で測定した結果を表4に示した。平均値より算出した理論値に対する割合は質量分率 103.4 %と試薬の表示値(min. 99 %)を満たしており, その相対標準偏差は 0.2 % と小さかった。なお, 試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った。

表4 試料の調製に用いた硝酸ナトリウム中の窒素の測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾ | 標準偏差 (%) ⁴⁾ | 理論値に 対する割合 ³⁾ (%) | 相対標 準偏差 (%) |
|---------|--|--|---------------------------|------------------------------------|-------------------|
| 硝酸ナトリウム | 16.48 | 17.04 | 0.04 | 103.4 | 0.2 |

- 1) 硝酸ナトリウム中の窒素(N)理論値
- 2) 硝酸性窒素(N-N)の3点併行試験の平均値
- 3) (平均値/理論値)×100
- 4) 質量分率

2) 真度評価結果

真度評価用試料(表 2)を用いて 3 点併行で硝酸性窒素(N-N)の試験を実施した成績を表 5 に示した。

肥料取締法⁷⁾において、保証成分量(含有する主成分の最小量)を生産業者保証票又は輸入業者保証票(以下、「保証票」という)に記載することを普通肥料(污泥肥料等を除く)の生産又は輸入した業者(以下、「生産業者等」という)に義務づけている。よって、硝酸性窒素(N-N)の設計値と当該試験法の測定値の差について算出した。硝酸性窒素(N-N)として質量分率 1 %~3 %含有する試料について当該試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率 0.01 %~0.03 %であり、設計値に対する回収率は 100.9 %~101.1 %であった。このことから、この試験法は、普通肥料(指定配合肥料を含む)の硝酸性窒素(N-N)の保証成分量の評価を得るに十分な正確さを有していたことが確認された。

なお、AOAC⁸⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 100 %で 98 %~101 %、質量分率 10 %で 95 %~102 %及び質量分率 1 %で 92 %~105 %であり、参考のため比較したところ硝酸性窒素(N-N)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中の硝酸性窒素(N-N)の試験成績

| 試験成分 | 試料 | 設計値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | 測定値 B ³⁾ (%) ²⁾ | 設計値と の差 C ⁴⁾ (%) ²⁾ | 差の割合 D ⁵⁾ (%) | 回収率 E ⁶⁾ (%) | 標準偏差 F ⁷⁾ (%) ²⁾ | 相対 標準偏差 G ⁸⁾ (%) |
|------|-------|--|--|---|-----------------------------|----------------------------|---|-----------------------------------|
| N-N | N-N-3 | 3.00 | 3.03 | 0.03 | 1.1 | 101.1 | 0.03 | 0.8 |
| | N-N-1 | 1.00 | 1.01 | 0.01 | 0.9 | 100.9 | 0.01 | 1.2 |

- 1) 試料中の硝酸性窒素(NN)の含有量(設計値)
- 2) 質量分率
- 3) 3点併行試験の平均値
- 4) C=B-A
- 5) D=(C/A)×100
- 6) E=(B/A)×100
- 7) 3点併行試験の標準偏差
- 8) G=(F/B)×100

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料(表 2)を用いて 7 点併行で硝酸性窒素(N-N)の試験を実施し、その成績を表 6 に示した。なお、定量下限は「(標準偏差)×10」式、また、検出下限は「(標準偏差)×2×t(n-1,0.05)」式を用いて算出し

た⁹⁾.

普通肥料の公定規格¹⁰⁾において、普通肥料(汚泥肥料等及び家庭園芸用複合肥料を除く。以下同じ。)の含有すべき主成分の最小量は硝酸性窒素(N-N)として質量分率 1.0 %と、家庭園芸用複合肥料の含有すべき主成分の最小量は硝酸性窒素(N-N)として質量分率 0.1 %と、肥料取締法施行規則¹¹⁾においては、指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く。)の保証成分量の最小値は硝酸性窒素(N-N)として質量分率 1.0 %と、指定配合肥料(家庭園芸用肥料に限る。)の保証成分量の最小値は硝酸性窒素(N-N)として質量分率 0.1 %とそれぞれ規定されている。さらに、硝酸性窒素(N-N)の保証成分量が質量分率 0.1 %~0.5 %として登録されている家庭園芸用複合肥料の多くが液状肥料である。

N-N-0.2 %の推定定量下限値は質量分率 0.01 %、推定検出下限値は質量分率 0.005 %であることから、表 3 に記載した試験法は、公定規格における普通肥料、指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く。)の硝酸性窒素(N-N)の含有量の評価を得るに十分な定量範囲を有していることが確認された。

また、N-N-0.02 %の推定定量下限値は質量分率 0.002 %、推定検出下限値は質量分率 0.001 %であることから、表 3 に記載した試験法は、家庭園芸用複合肥料及び指定配合肥料(家庭園芸用肥料に限る。)の硝酸性窒素(N-N)の含有量の評価を得るに十分な定量範囲を有していることが確認された。

表6 定量下限確認試験の成績 (質量分率:%)

| 試験成分 | 試料 | 設計値 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ | 標準偏差 | 推定定量 下限値 ³⁾ | 推定検出 下限値 ⁴⁾ |
|------|------------------------|-------------------|-------------------|--------|---------------------------|---------------------------|
| N-N | N-N-0.2 ⁵⁾ | 0.2 | 0.197 | 0.001 | 0.01 | 0.005 |
| | N-N-0.02 ⁶⁾ | 0.02 | 0.0205 | 0.0002 | 0.002 | 0.001 |

1) 試料中の窒素(N)の含有量(設計値)

2) 7点併行試験の平均値

3) 標準偏差×10

4) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

5) 粉状試料

6) 液状試料

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、既報の外部精度管理試験¹²⁾のうち該当する試験法で実施された成績¹³⁾を適用することとし、それらの成績を表 7 に示した。なお、外部精度管理試験では、ロバスト法を用いて報告値の中央値及び標準化された四分位範囲(NIQR)が算出されている。中央値及び NIQR は正規分布において平均値及び標準偏差に一致する。

硝酸性窒素(N-N)の中央値が質量分率 3.62 %の範囲でそのロバスト標準偏差は質量分率 0.11 %、その相対標準偏差は 3.2 %であった。また、硝酸性窒素(N-N)の試験成績の HorRat 値は 0.96 であった。

なお、AOAC(OMA)⁸⁾における濃度レベルにおける室間再現精度の目安は濃度 100 %で 2 %、濃度 10 %で 3 %、濃度 1 %で 4 %及び濃度 0.1 %で 6 %であり、参考のため比較したところ硝酸性窒素(N-N)の室間再現標準偏差はこれらの目安を下回った。

表7 外部精度管理試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験 年度 | 試験 室数 | 中央値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | NIQR B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|------|--------|----------|----------|--|---|---|-----------------------------|----------------------------|
| N-N | 普通化成肥料 | 2009 | 123 | 3.62 | 0.11 | 3.2 | 3.30 | 0.96 |

- 1) 中央値
- 2) 質量分率
- 3) ロバスト標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

4. まとめ

硝酸性窒素(N-N)のフェノール硫酸法の真度、定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ、次の結果を得た。

(1) 硝酸性窒素(N-N)として質量分率1%~3%含有する試料について当該試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率0.01%~0.03%であり、設計値に対する回収率は100.9%~101.1%であった。

(2) 粉状試料(N-Nとして質量分率0.2%)を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、質量分率0.01%及び0.005%と推定された。また、液状試料(N-Nとして質量分率0.02%)の定量下限及び検出下限はそれぞれ質量分率0.002%及び0.001%程度と推定された。

(3) 外部精度管理試験より室間再現精度を調査したところ、中央値が質量分率3.62%でその室間再現標準偏差は質量分率0.11%、その相対標準偏差は3.2%であった。

(1)~(3)の成績は、肥料等試験法に記載された試験法が主要な成分としての硝酸性窒素(N-N)の含有量を評価することができる性能を有していると示しており、クライテリア・アプローチにおける試験法の性能規準の資料に適用できると考えられる。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法(1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 5) 肥料取締法施行令, 昭和25年6月20日, 政令第198号, 最終改平成18年3月23日, 政令第51号(2006)
- 6) 農林水産省告示: 肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和59年3月16日, 農林水産省告示第695号, 最終改正平成11年5月13日, 農林水産省告示第704号(1999)
- 7) 肥料取締法: 昭和25年5月1日, 法律第127号, 最終改平成23年8月30日, 法律第105号(2011)

- 8) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
<http://www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf>
- 9) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
<www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>
- 10) 農林水産省告示:肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 22 年 4 月 9 日, 農林省告示第 589 号 (2010)
- 11) 農林水産省令:肥料取締法施行規則, 昭和 25 年 6 月 20 日, 農林水産省令第 64 号, 最終改正平成 20 年 2 月 29 日, 農林水産省令第 11 号 (2008)
- 12) ISO 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons” (JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」)
- 13) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 井上智江, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2009 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **3**, 73~94 (2010)

Verification of Performance Characteristics of Testing Method for Nitrate Nitrogen Content in Fertilizer by Phenol Sulfuric Acid Method

Kimie KATO¹, Masaki CHIDA¹ and Erina WATANABE¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center

We verified performance characteristics of testing methods for nitrate nitrogen (N-N) by phenol sulfuric acid method described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for nitrate nitrogen was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 1 % ~ 3 % nitrate nitrogen which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 100.9 % to 101.1 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.01 % and 0.002 %, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, median, normalize interquartile range (NIQR) and relative standard deviation (RSD_R) for reproducibility of nitrate nitrogen obtained by proficiency testings were 3.62 %, 0.11 % and 3.2 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a phenol sulfuric acid method of nitrate nitrogen.

Key words criteria approach, nitrate nitrogen, phenol sulfuric acid method, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **6**, 148~155, 2013)

14 亜鉛試験法の性能調査

—フレイム原子吸光法—

阿部 進¹, 須永善行²

キーワード クライテリア・アプローチ, 亜鉛, フレイム原子吸光法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準(criteria)を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ(Criteria Approach)と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法(1992年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 下水道汚泥肥料等の主要な成分等として指定⁵⁾されている亜鉛全量(T-Zn)及び効果発現促進材として使用量を表示する⁶⁾水溶性亜鉛(W-Zn)のフレイム原子吸光法の精確さ等の性能を調査した.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には亜鉛が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表 1 のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 粒状の試薬は乳鉢等を用いて粉碎した. 硫酸亜鉛七水和物の純度を 100.0 %と仮定して表 2 のとおり試薬を混合し, 亜鉛全量(T-Zn)分析用として, 亜鉛(Zn)を質量分率 0.001 %~1.2 %含有する試料を調製した. また, 表 3 のとおり試薬を混合し, 水溶性亜鉛(W-Zn)分析用として, 亜鉛(Zn)を質量分率 0.003 %~10 %含有する試料を調製した. さらに, 水溶性亜鉛(W-Zn)については, 試薬を水に溶解して亜鉛(Zn)を質量分率 0.0001 %~1 %含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 原子吸光分析装置: 日立ハイテクノロジーズ Z-2300
- (2) マッフル炉: ADVANTEC 東洋 FUW242PA
- (3) ホットプレート: アサヒ理化製作所 APS-500

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター (現)肥飼料安全検査部

(4) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC 東洋 恒温回転振とう機 THM062FA

表1 試料の調製に使用した試薬

| 使用する試薬 | | 対応する原材料名 | |
|--------------|--------------|-------------|-----|
| 名称 | 規格 | 名称又は種類名(材料) | 慣用名 |
| 硫酸アンモニウム | JIS K8960 特級 | 硫酸アンモニア | 硫安 |
| りん酸二水素アンモニウム | JIS K9006 特級 | りん酸アンモニア | MAP |
| りん酸二水素カリウム | JIS K9007 特級 | りん酸一カリウム | |
| 塩化カリウム | JIS K8121 特級 | 塩化加里 | 塩加 |
| 硫酸亜鉛七水和物 | JIS K8953 特級 | 効果発現促進材 | |
| 硫酸銅(Ⅱ)五水和物 | JIS K8983 特級 | 効果発現促進材 | |
| くえん酸一水和物 | JIS K8283 特級 | 沈殿防止材 | |
| セルロース | 特級 | | |
| スクロース | 特級 | | |

表2 亜鉛全量(T-Zn)分析試験に用いた試料の配合割合 (質量分率%)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | 定量下限確認用試料 |
|--------------|---------|---------|-----------|
| | Zn-1.2 | Zn-0.09 | Zn-0.001 |
| りん酸二水素アンモニウム | 10.000 | 10.000 | 10.000 |
| 硫酸亜鉛七水和物 | 5.2783 | 0.3959 | 0.0044 |
| 硫酸銅(Ⅱ)五水和物 | 0.5894 | 0.1179 | 0.0039 |
| セルロース | 60.000 | 60.000 | 60.000 |
| スクロース | 24.132 | 29.486 | 29.992 |
| Zn含有量 | 1.2 | 0.09 | 0.001 |

表3 水溶性亜鉛(W-Zn)分析試験に用いた試料の配合割合 (質量分率%)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | | | | | 定量下限確認用試料 | |
|------------|---------|--------|--------|---------|---------|----------|-----------|-----------|
| | Zn-10 | Zn-2 | Zn-1 | Zn-0.05 | Zn-0.01 | Zn-0.002 | Zn-0.003 | Zn-0.0001 |
| 硫酸アンモニウム | 10.000 | 60.000 | 5.000 | 5.000 | 60.000 | 5.000 | 60.000 | 5.000 |
| りん酸二水素カリウム | 5.000 | 20.000 | 3.000 | 3.000 | 20.000 | 3.000 | 30.000 | 3.000 |
| 塩化カリウム | 1.721 | 7.274 | | | 19.838 | | 9.975 | |
| 硫酸亜鉛七水和物 | 43.986 | 8.7972 | 4.3986 | 0.2199 | 0.0440 | 0.0088 | 0.0132 | 0.000440 |
| 硫酸銅(Ⅱ)五水和物 | 39.293 | 3.9293 | 3.9293 | 0.1965 | 0.1179 | 0.0079 | 0.0118 | 0.000393 |
| くえん酸一水和物 | | | 1.000 | 1.000 | | 1.000 | | 1.000 |
| 水 | | | 82.672 | 90.584 | | 90.983 | | 91.000 |
| Zn含有量 | 10 | 2 | 1 | 0.05 | 0.01 | 0.002 | 0.003 | 0.0001 |

3) 試薬の調製

- (1) 水: 水精製装置(MERCK ELIX ESSENTIAL5)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した.
- (2) 塩酸: JIS K 8180 に規定する特級試薬.
- (3) 硝酸: JIS K 8541 に規定する特級試薬.

- (4) 亜鉛標準液 (Zn 0.1 mg/mL): 亜鉛標準液 (Zn: 100 mg/L) (和光純薬工業; JCSS) を使用した.
- (5) 検量線用亜鉛標準液: 亜鉛標準液 (Zn 0.1 mg/mL) を段階的にとり, 最終希釈液に調製する容量の 1/4 容量の塩酸(1+5)をそれぞれ加え, 水で希釈して検量線用亜鉛標準液 (Zn 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 µg/mL) を調製した.
- (6) 検量線用空試験液: 塩酸(1+5)を一定量とり, 水で 10 倍に希釈した.
- (7) その他の試薬: 肥料等試験法³⁾に従った.

4) 試験成分及び試験方法

亜鉛全量 (T-Zn) 及び水溶性亜鉛 (W-Zn) の抽出及び測定は表 4 のとおり肥料等試験法³⁾の各試験方法を用いる. なお, 参考のため, 各試験法のフローシート(図 1~2)を示した.

表4 試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 肥料等試験法の項目 | 試料溶液の調製方法 |
|--------------|-------------------|------------------|
| 亜鉛全量 (T-Zn) | 4.9.1.a フレーム原子吸光法 | (4.1) 灰化、硝酸・塩酸分解 |
| 水溶性亜鉛 (W-Zn) | 4.9.2.a フレーム原子吸光法 | (4.1) 水回転振とう |

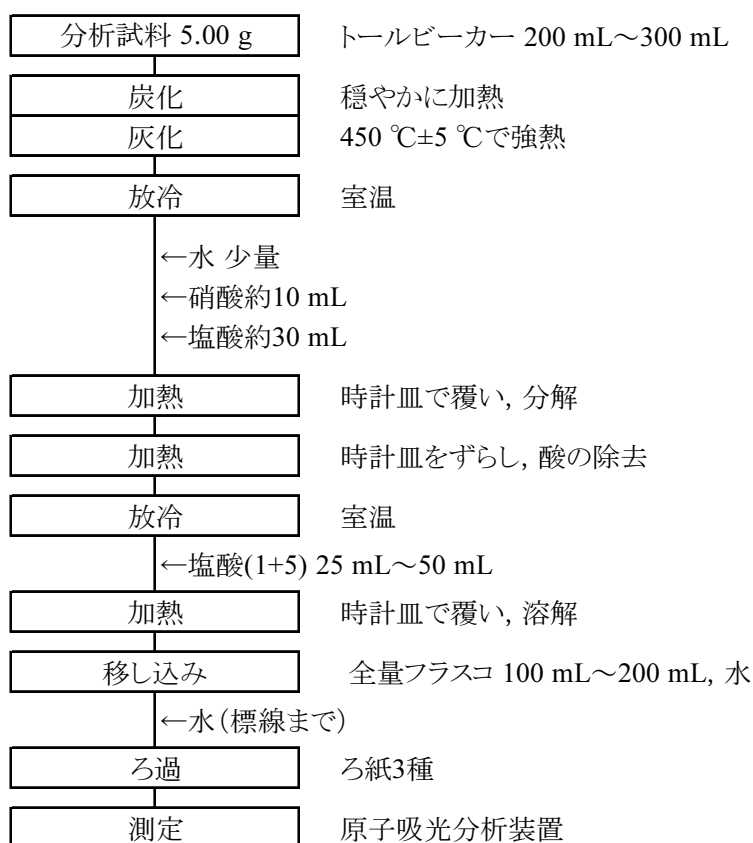


図1 亜鉛全量試験法フローシート

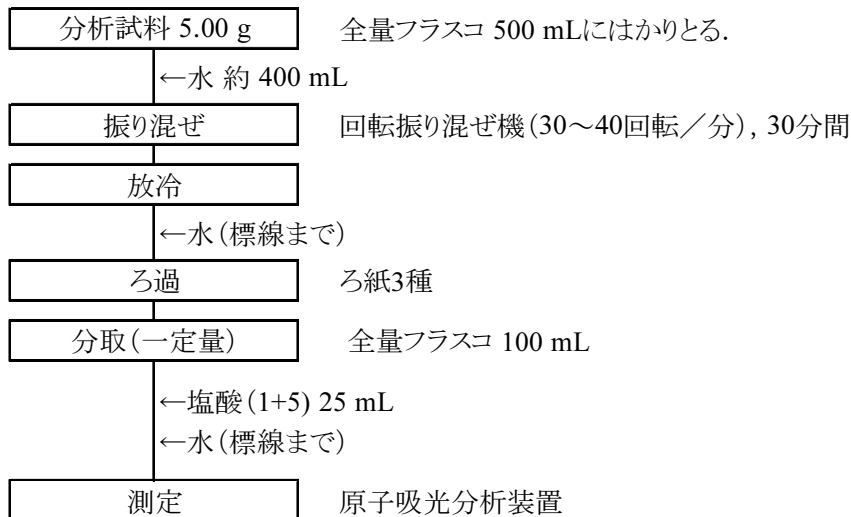


図2 水溶性亜鉛試験法フローシート

3. 結果及び考察

1) 試料の調製に用いた硫酸亜鉛七水和物中の亜鉛の含有量

試料の調製に用いた硫酸亜鉛七水和物中の亜鉛含有量を肥料等試験法(水溶性亜鉛)により3点併行で測定した結果を表5に示した。平均値より算出した理論値に対する割合は、質量分率 100.5 % と試薬の表示値 (min. 99.5 %) を満たしており、その相対標準偏差は 0.2 % と小さかった。このことから、試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った。

表5 試料の調製に用いた硫酸亜鉛七水和物中の亜鉛の測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾ | 標準偏差 (%) ⁴⁾ | 理論値に 対する割合 ³⁾ (%) ⁴⁾ | 相 対 標準偏差 (%) |
|---------------|--|--|---------------------------|--|--------------------|
| 硫酸亜鉛七水和物(水溶性) | 22.73 | 22.84 | 0.04 | 100.5 | 0.2 |

- 1) 硫酸亜鉛七水和物の亜鉛(Zn)理論値
- 2) 3点併行試験の平均値
- 3) (平均値/理論値)×100
- 4) 質量分率

2) 真度評価試験

真度評価用試料(表2, 3)を用いて3点併行で亜鉛全量(T-Zn)及び水溶性亜鉛(W-Zn)の試験を実施した成績を表6に示した。

肥料取締法⁷⁾において、主要な成分の含有量を保証票又は表示に記載することを汚泥肥料等又はたい肥等の生産業者等に義務づけている。亜鉛全量(T-Zn)については、現物1キログラム当たり900ミリグラム以上含有する場合に限り表示が義務⁵⁾づけられており、表示値に対する許容誤差は、特殊肥料の品質表示基準⁸⁾において、表示値の±30%と定められている。よって、亜鉛全量(T-Zn)の回収率及び設計値と測定値との差の割合について算出した。Zn-1.2及びZn-0.09の回収率は97.8%~99.5%であり、Zn-1.2及びZn-0.09の設計値と測定値との差の割合は、質量分率-2.2%~-0.5%であった。このことから、これらの試験法は、汚泥肥料等又はたい

肥等の亜鉛全量(T-Zn)の表示値の評価を得るに十分な正確さを有していることが確認された。

また、農林水産省告示⁶⁾において、効果発現促進材の使用量等は家庭園芸用肥料以外の普通肥料にあつては、保証票に表示することが義務づけられている。亜鉛(Zn)については、効果発現促進材として液状肥料での使用も多いため、粉状試料と液状試料(表 3)について調査を行い、水溶性亜鉛(W-Zn)の回収率及び設計値と測定値との差の割合について算出した。粉状試料である Zn-10, Zn-2 及び Zn-0.01 の回収率は 98.9 %~101.9 %であり、Zn-10, Zn-2 及び Zn-0.01 の設計値と測定値との差の割合は、質量分率-1.2 %~1.9 %であった。液状試料である Zn-1, Zn-0.05 及び Zn-0.002 の回収率は 99.6 %~100.6 %であり、Zn-1, Zn-0.05 及び Zn-0.002 の設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.4 %~0.6 %であった。このことから、これらの試験法は、水溶性亜鉛(W-Zn)の表示値の評価を得るに十分な正確さを有していることが確認された。

なお、AOAC⁹⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 10 %で 95 %~102 %, 質量分率 1 %で 92 %~105 %及び質量分率 0.001 %で 85 %~110 %であり、参考のため比較したところ亜鉛全量(T-Zn)及び水溶性亜鉛(W-Zn)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表6 試料中の亜鉛(Zn)の試験成績

| 試験成分 | 試料 | 理論値 | 測定値 | 理論値との差 | 差の割合 | 回収率 | 標準偏差 | 相対標準偏差 |
|-------|----------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------|
| | | A ¹⁾ (%) ²⁾ | B ³⁾ (%) ²⁾ | C ⁴⁾ (%) ²⁾ | D ⁵⁾ (%) | E ⁶⁾ (%) | F ⁷⁾ (%) ²⁾ | G ⁸⁾ (%) |
| T- Zn | Zn-1.2 | 1.2 | 1.19 | -0.01 | -0.5 | 99.5 | 0.00 | 0.1 |
| | Zn-0.09 | 0.09 | 0.088 | -0.002 | -2.2 | 97.8 | 0.00 | 0.9 |
| W- Zn | Zn-10 | 10 | 10.16 | 0.16 | 1.6 | 101.6 | 0.01 | 0.1 |
| | Zn-2 | 2 | 2.04 | 0.04 | 1.9 | 101.9 | 0.01 | 0.4 |
| | Zn-1 | 1 | 0.996 | -0.004 | -0.4 | 99.6 | 0.00 | 0.3 |
| | Zn-0.05 | 0.05 | 0.0502 | 0.0002 | 0.4 | 100.4 | 0.00 | 0.1 |
| | Zn-0.01 | 0.01 | 0.00989 | -0.00012 | -1.2 | 98.9 | 0.00 | 1.7 |
| | Zn-0.002 | 0.002 | 0.00201 | 0.00001 | 0.6 | 100.6 | 0.00 | 0.3 |

1) 試料中の亜鉛(Zn)の含有量(理論値)

2) 質量分率

3) 3点併行試験の平均値

4) $C=B-A$

5) $D=(C/A) \times 100$

6) $E=(B/A) \times 100$

7) 3点併行試験の標準偏差

8) $G=(F/B) \times 100$

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料(表 2, 3)を用いて 7 点併行で亜鉛全量(T-Zn)及び水溶性亜鉛(W-Zn)の試験を実施した結果を表 7 に示した。なお、定量下限は(標準偏差) $\times 10$ 式、また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ 式を用いて算出した¹⁰⁾。

AOAC⁹⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 0.001 %で 80 %~115 %であり、参考のため比較したところ亜鉛全量(T-Zn) Zn-0.001 の回収率は許容範囲を超える結果であった。

Zn-0.001 の推定定量下限値は質量分率 0.0005 %, 推定検出下限値は質量分率 0.0002 %であると評価できる。

AOAC⁹⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率0.001%で80%~115%及び質量分率0.0001%で75%~120%であり、参考のため比較したところ水溶性亜鉛(W-Zn)の粉状試料であるZn-0.003及び液状試料であるZn-0.0001の回収率は許容範囲内であった。このことから、表4に記載した試験法は、水溶性亜鉛(W-Zn)の評価を得るに十分な定量範囲を有していることが確認された。

Zn-0.003の推定定量下限値は質量分率0.001%、推定検出下限値は質量分率0.0004%であり、Zn-0.0001の推定定量下限値は質量分率0.00009%、推定検出下限値は質量分率0.00004%であると評価できる。

表7 定量下限確認試験の成績

| 試験成分 | 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ²⁾ | 平均値 ³⁾ (%) ²⁾ | 回収率 ⁴⁾ (%) | 標準偏差 (%) ²⁾ | 推定定量 下限値 ⁵⁾ (%) ²⁾ | 推定検出 下限値 ⁶⁾ (%) ²⁾ |
|------|-------------------------|--|--|--------------------------|---------------------------|--|--|
| T-Zn | Zn-0.001 ⁷⁾ | 0.001 | 0.00115 | 115.3 | 0.00005 | 0.0005 | 0.0002 |
| W-Zn | Zn-0.003 ⁷⁾ | 0.003 | 0.00315 | 105.1 | 0.00010 | 0.001 | 0.0004 |
| W-Zn | Zn-0.0001 ⁸⁾ | 0.0001 | 0.000111 | 111.3 | 0.000009 | 0.00009 | 0.00004 |

- 1) 試料中の亜鉛(Zn)の含有量(理論値)
- 2) 質量分率
- 3) 7点併行試験の平均値
- 4) (平均値/理論値)×100
- 5) 標準偏差×10
- 6) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)
- 7) 粉状試料
- 8) 液状試料

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、該当する試験法で実施された既報の認証標準物質の値付けのための共同試験¹⁰⁾の成績¹¹⁾を適用することとし、それらの成績を表8に示した。

亜鉛全量(T-Zn)の平均値が992 mg/kgでその室間再現標準偏差は32 mg/kg、その相対標準偏差は3.3%であった。また、亜鉛全量(T-Zn)の試験成績のHorRat値は0.58であった。

なお、参考のため、AOAC(OMA)⁸⁾における濃度レベルにおける室間再現精度の目安(濃度100%で2%、濃度10%で3%、濃度1%で4%及び濃度0.1%で6%)と比較したところ、亜鉛全量(T-Zn)の室間再現標準偏差(RSD_R)はこれらの目安を下回った。

表8 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験 年度 | 試験 室数 | 平均値 A ¹⁾ (mg/kg) | SD _R B ²⁾ (mg/kg) | RSD _R C ³⁾ (%) | PRSD _R D ⁴⁾ (mg/kg) | HorRat値 E ⁵⁾ |
|------|--------|----------|----------|-----------------------------------|---|--|---|----------------------------|
| T-Zn | 汚泥発酵肥料 | 2012 | 12 | 992 | 32 | 3.3 | 5.7 | 0.58 |

- 1) 認証値
- 2) 室間再現標準偏差
- 3) 室間再現相対標準偏差 C = (B/A)×100
- 4) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 5) HorRat値 E = C/D

4. まとめ

亜鉛全量(T-Zn)及び水溶性亜鉛(W-Zn)のフレイム原子吸光光度法の真度、定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ、次の結果を得た。

(1) 亜鉛(Zn)として質量分率 0.09 %～1.2 %含有する試料についての亜鉛全量(T-Zn)の測定結果は、回収率が 97.8 %～99.5 %であり、設計値と測定値との差の割合は、質量分率-2.2 %～-0.5 %であった。

(2) 亜鉛(Zn)として質量分率 0.01 %～10 %含有する粉状試料についての水溶性亜鉛(W-Zn)の測定結果は、回収率が 98.9 %～101.9 %であり、設計値と測定値との差の割合は、質量分率-1.2 %～1.9 %であった。また、亜鉛(Zn)として 0.002 %～1 %含有する液状試料についての水溶性亜鉛(W-Zn)の測定結果は、回収率が 99.6 %～100.6 %であり、設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.4 %～0.6 %であった。

(3) 亜鉛全量(T-Zn)について亜鉛(Zn)として質量分率 0.001 %含有する試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率 0.0005 %, 0.0002 %程度と推定された。

(4) 水溶性亜鉛(W-Zn)について亜鉛(Zn)として質量分率 0.003 %含有する粉状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率 0.001 %, 0.0004 %程度と推定された。また、亜鉛(Zn)として質量分率 0.0001 %含有する液状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率 0.00009 %, 0.00004 %程度と推定された。

(5) 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験より室間再現精度を調査したところ、亜鉛全量(T-Zn)は平均値が 992 mg/kg でその室間再現標準偏差は 32 mg/kg, その相対標準偏差は 3.3 %であった。

(1)～(5)の成績は、肥料等試験法に記載された試験法が主要な成分としての亜鉛(Zn)の含有量を評価することができる性能を有していると示しており、クライテリア・アプローチのガイドラインの亜鉛(Zn)試験法の性能規準を作成する際に、これらの試験法は十分に参考になると考えられた。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>
- 3) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法 <<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 5) 農林水産省告示:肥料取締法第一七条第一項第三号の規定に基づき、肥料取締法第四条第一項第三号に掲げる普通肥料の保証票にその含有量を記載する主要な成分を定める件, 平成12年1月27日, 農林水産省告示第96号, 最終改正平成13年3月15日, 農林水産省告示第337号(2001)
- 6) 農林水産省告示:肥料取締法施行規則第十一条の二第一項及び第二項の規定に基づき原料及び材料の保証票への記載に関する事項を定める件, 昭和59年3月16日, 農林水産省告示第700号, 最終改正平成16年1月15日, 農林水産省告示第74号(2004)
- 7) 肥料取締法:昭和25年5月1日, 法律第127号, 最終改正平成23年8月30日, 法律第105号(2011)
- 8) 農林水産省告示:特殊肥料の品質表示基準, 平成12年8月31日, 農林水産省告示第1163号, 最終改正平成17年2月28日, 農林水産省告示第364号(2005)

- 9) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
- 10) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 11) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人: 2010 年度肥料認証標準物質の開発, 肥料研究報告, **4**, 107~120 (2011)

Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Zinc in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Shin ABE¹ and Yoshiyuki SUNAGA²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

We verified performance characteristics of testing methods for total zinc (T-Zn) and water-soluble zinc (W-Zn) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of zinc was assured from 3 replicate determinations of 8 fertilizer samples containing 0.002% ~ 10% zinc which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 97.8 % ~ 101.9 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.0005 % ~ 0.001 % and 0.0009 %, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, mean values , relative standard deviations (SD_R) for reproducibility and relative standard deviations (RSD_R) of T-Zn obtained by collaborative studies were 992 mg/kg, 32 mg/kg and 3.3 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of zinc.

Key words criteria approach, zinc, atomic absorption spectrometry, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **6**, 156~164, 2013)

15 銅試験法の性能調査

—フレイム原子吸光法—

阿部 進¹, 須永善行²

キーワード クライテリア・アプローチ, 銅, フレイム原子吸光法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準(criteria)を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ(Criteria Approach)と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法(1992年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 下水道汚泥肥料等の主要な成分等として指定⁵⁾されている銅全量(T-Cu)及び効果発現促進材として使用量を表示する⁶⁾水溶性銅(W-Cu)のフレイム原子吸光分析法の精確さ等の性能を調査した.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には銅が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表 1 のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 粒状の試薬は乳鉢等を用いて粉碎した. 硫酸銅(II)五水和物の純度を 100.0 %と仮定して表 2 のとおり試薬を混合し, 銅全量(T-Cu)分析用として, 銅(Cu)を 0.001 %~0.15 % 含有する肥料を調製した. また, 表 3 のとおり試薬を混合し, 水溶性銅(T-Cu)分析用として, 銅(Cu)を質量分率 0.003 %~10 %含有する試料を調製した. さらに, 試薬を水に溶解して銅(Cu)を質量分率 0.0001 %~1%含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 原子吸光分析装置: 日立ハイテクノロジーズ Z-2300
- (2) マッフル炉: ADVANTEC 東洋 FUW242PA
- (3) ホットプレート: アサヒ理化製作所 APS-500
- (4) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC 東洋 恒温回転振とう機 THM062FA

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター (現)肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター仙台センター

表1 試料の調製に使用した試薬

| 使用する試薬 | | 対応する原材料名 | |
|------------|--------------|-------------|-----|
| 名称 | 規格 | 名称又は種類名(材料) | 慣用名 |
| 硫酸アンモニウム | JIS K8960 特級 | 硫酸アンモニア | 硫安 |
| りん酸二水素カリウム | JIS K9007 特級 | りん酸一カリウム | |
| 塩化カリウム | JIS K8121 特級 | 塩化加里 | 塩加 |
| 硫酸銅(Ⅱ)五水和物 | JIS K8983 特級 | 効果発現促進材 | |
| 硫酸亜鉛七水和物 | JIS K8953 特級 | 効果発現促進材 | |
| くえん酸一水和物 | JIS K8283 特級 | 沈殿防止材 | |
| セルロース | 特級 | | |
| スクロース | 特級 | | |
| グルテン | 特級 | | |

表2 銅全量 (T-Cu) 分析試験に用いた試料の配合割合 (質量分率 %)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | 定量下限確認用試料 |
|------------|---------|---------|-----------|
| | Cu-0.15 | Cu-0.03 | Cu-0.001 |
| りん酸二水素カリウム | 5.000 | 5.000 | 5.000 |
| 硫酸銅(Ⅱ)五水和物 | 0.5894 | 0.1179 | 0.0039 |
| セルロース | 60.000 | 60.000 | 60.000 |
| スクロース | 25.411 | 25.882 | 25.996 |
| グルテン | 9.000 | 9.000 | 9.000 |
| Cu含有量 | 0.15 | 0.03 | 0.001 |

表3 水溶性銅 (W-Cu) 分析試験に用いた試料の配合割合 (質量分率 %)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | | | | | 定量下限確認用試料 | |
|------------|---------|--------|--------|---------|---------|----------|-----------|-----------|
| | Cu-10 | Cu-1-1 | Cu-1-2 | Cu-0.05 | Cu-0.03 | Cu-0.002 | Cu-0.003 | Cu-0.0001 |
| 硫酸アンモニウム | 10.000 | 60.000 | 5.000 | 5.000 | 60.000 | 5.000 | 60.000 | 5.000 |
| りん酸二水素カリウム | 5.000 | 20.000 | 3.000 | 3.000 | 20.000 | 3.000 | 30.000 | 3.000 |
| 塩化カリウム | 1.721 | 7.274 | | | 19.838 | | 9.975 | |
| 硫酸銅(Ⅱ)五水和物 | 39.293 | 3.9293 | 3.9293 | 0.1965 | 0.1179 | 0.0079 | 0.0118 | 0.000393 |
| 硫酸亜鉛七水和物 | 43.986 | 8.7972 | 4.3986 | 0.2199 | 0.0440 | 0.0088 | 0.0132 | 0.000440 |
| くえん酸一水和物 | | | 1.000 | 1.000 | | 1.000 | | 1.000 |
| 水 | | | 82.672 | 90.584 | | 90.983 | | 91.000 |
| Cu含有量 | 10 | 1 | 1 | 0.05 | 0.03 | 0.002 | 0.003 | 0.0001 |

3) 試薬の調製

(1) 水: 水精製装置(MERCK ELIX ESSENTIAL5)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。

(2) 塩酸: JIS K 8180 に規定する特級試薬。

(3) 硝酸: JIS K 8541 に規定する特級試薬。

(4) 銅標準液(Cu 0.1 mg/mL): 銅標準液(Cu: 100 mg/L)(和光純薬工業;JCSS)を使用した。

- (5) 検量線用銅標準液: 銅標準液(Cu 0.1 mg/mL)を段階的にとり, 最終希釈液に調製する容量の 1/4 容量の塩酸(1+5)をそれぞれ加え, 水で希釈して検量線用銅標準液(Cu 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 µg/mL)を調製した.
- (6) 検量線用空試験液: 塩酸(1+5)を一定量とり, 水で 10 倍に希釈した.
- (7) その他の試薬: 肥料等試験法³⁾に従った.

4) 試験成分及び試験方法

銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)の抽出及び測定は表 4 のとおり肥料等試験法(2012)³⁾の各試験方法を用いる. なお, 参考のため, 各試験法のフローシート(図 1~2)を示した.

表4 試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 肥料等試験法の項目 | 試料溶液の調製方法 |
|------------|--------------------|------------------|
| 銅全量(T-Cu) | 4.10.1.a フレイム原子吸光法 | (4.1) 灰化、硝酸・塩酸分解 |
| 水溶性銅(W-Cu) | 4.10.2.a フレイム原子吸光法 | (4.1) 水回転振とう |

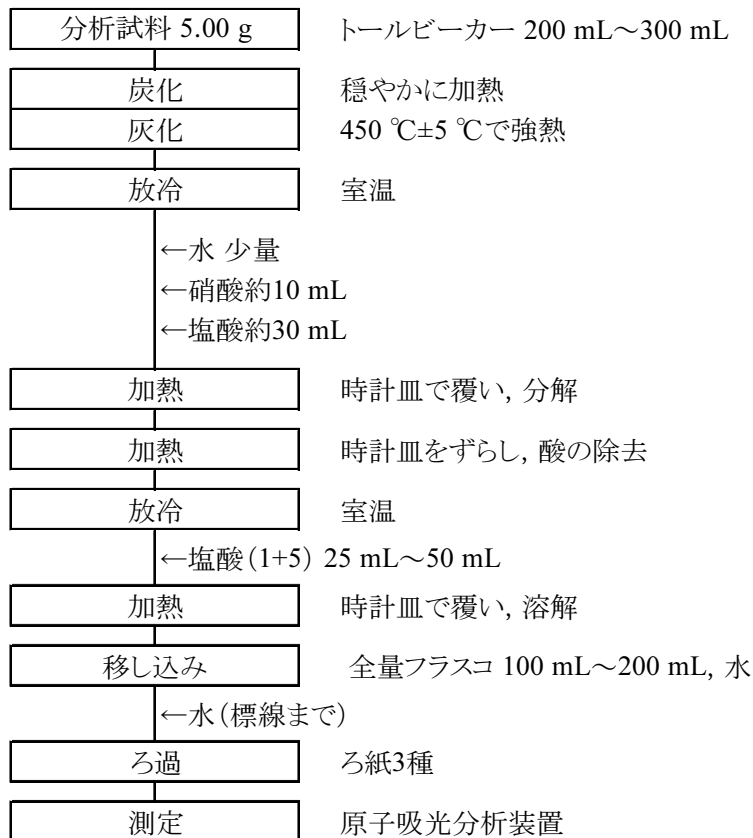


図1 銅全量試験法フローシート

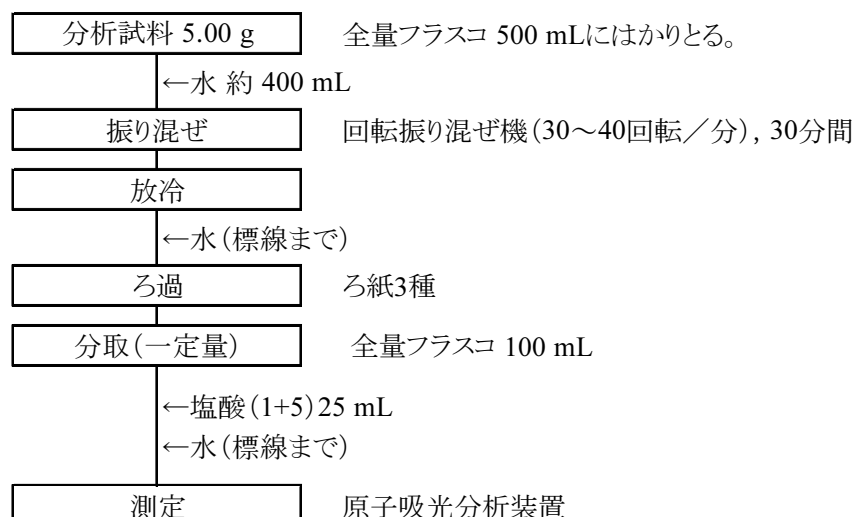


図2 水溶性銅試験法フローシート

3. 結果及び考察

1) 試料の調製に用いた硫酸銅(Ⅱ)五水和物中の銅の含有量

試料の調製に用いた硫酸銅(Ⅱ)五水和物中の銅含有量を肥料等試験法(水溶性銅)により3点併行で測定した結果を表5に示した。平均値より算出した理論値に対する割合は、質量分率 100.2 %と試薬の表示値 (min. 99.5 %)を満たしており、その相対標準偏差は 0.1 %と小さかった。このことから、試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った。

表5 試料の調製に用いた硫酸銅(Ⅱ)五水和物中の銅の測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾ | 標準偏差 (%) ⁴⁾ | 理論値に 対する割合 ³⁾ (%) | 相 対 標準偏差 (%) |
|-----------------|--|--|---------------------------|------------------------------------|--------------------|
| 硫酸銅(Ⅱ)五水和物(水溶性) | 25.45 | 25.50 | 0.04 | 100.2 | 0.1 |

1) 硫酸銅(Ⅱ)五水和物の銅(Cu)理論値

2) 3点併行試験の平均値

3) (平均値/理論値)×100

4) 質量分率

2) 真度評価試験

真度評価用試料(表2, 3)を用いて3点併行で銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)の試験を実施した成績を表6に示した。

肥料取締法⁷⁾において、主要な成分の含有量を保証票又は表示に記載することを汚泥肥料等又はたい肥等の生産業者等に義務づけている。銅全量(T-Cu)については、現物1キログラム当たり300ミリグラム以上含有する場合に限り表示が義務⁵⁾づけられており、表示値に対する許容誤差は、特殊肥料の品質表示基準⁸⁾において、表示値の±30 %と定められている。よって、銅全量(T-Cu)の回収率及び設計値と測定値との差の割合について算出した。Cu-0.15及びCu-0.03の回収率は99.6%~100.4%であり、Cu-0.15及びCu-0.03の設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.4%~0.4%であった。このことから、これらの試験法は、汚泥肥料等又はたい

肥等の銅全量(T-Cu)の表示値の評価を得るに十分な正確さを有していることが確認された。

また、農林水産省告示⁶⁾において、効果発現促進材の使用量等は家庭園芸用肥料以外の普通肥料にあつては、保証票に表示することが義務づけられている。銅(Cu)については、効果発現促進材として液状肥料での使用も多いため、粉状試料と液状試料(表 3)について調査を行い、水溶性銅(W-Cu)の回収率及び設計値と測定値との差の割合について算出した。粉状試料である Cu-10, Cu-1-1 及び Cu-0.03 の回収率は 99.4 %~102.6 %であり、Cu-10, Cu-1-1 及び Cu-0.03 の設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.6 %~2.6 %であった。液状試料である Cu-1-2, Cu-0.05 及び Cu-0.002 の回収率は 98.8 %~101.4 %であり、Cu-1-2, Cu-0.05 及び Cu-0.002 の設計値と測定値との差の割合は、質量分率-1.2 %~1.4 %であった。このことから、これらの試験法は、水溶性銅(W-Cu)の表示値の評価を得るに十分な正確さを有していることが確認された。

なお、AOAC⁹⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 10 %で 95 %~102 %, 質量分率 1 %で 92 %~105 %及び質量分率 0.001 %で 85 %~110 %であり、参考のため比較したところ銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表6 試料中の銅(Cu)の試験成績

| 試験成分 | 試料 | 理論値 | 測定値 | 理論値との差 | 差の割合 | 回収率 | 標準偏差 | 相対標準偏差 |
|-------|----------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------|
| | | A ¹⁾ (%) ²⁾ | B ³⁾ (%) ²⁾ | C ⁴⁾ (%) ³⁾ | D ⁵⁾ (%) | E ⁶⁾ (%) | F ⁷⁾ (%) ²⁾ | G ⁸⁾ (%) |
| T- Cu | Cu-0.15 | 0.15 | 0.151 | 0.001 | 0.4 | 100.4 | 0.00 | 1.1 |
| | Cu-0.03 | 0.03 | 0.030 | 0.000 | -0.4 | 99.6 | 0.00 | 3.2 |
| W- Cu | Cu-10 | 10 | 10.07 | 0.07 | 0.7 | 100.7 | 0.04 | 0.4 |
| | Cu-1-1 | 1 | 0.994 | -0.006 | -0.6 | 99.4 | 0.01 | 1.0 |
| | Cu-1-2 | 1 | 0.988 | -0.012 | -1.2 | 98.8 | 0.00 | 0.4 |
| | Cu-0.05 | 0.05 | 0.0497 | -0.0003 | -0.7 | 99.3 | 0.00 | 0.2 |
| | Cu-0.03 | 0.03 | 0.0308 | 0.0008 | 2.6 | 102.6 | 0.00 | 2.7 |
| | Cu-0.002 | 0.002 | 0.00203 | 0.00003 | 1.4 | 101.4 | 0.00 | 1.2 |

1) 試料中の銅(Cu)の含有量(理論値)

2) 質量分率

3) 3点併行試験の平均値

4) $C=B-A$

5) $D=(C/A) \times 100$

6) $E=(B/A) \times 100$

7) 3点併行試験の標準偏差

8) $G=(F/B) \times 100$

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料(表 2, 3)を用いて 7 点併行で銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)の試験を実施した結果を表 7 に示した。なお、定量下限は(標準偏差) $\times 10$ 式、また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ 式を用いて算出した¹⁰⁾。

AOAC⁹⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 0.001 %で 80 %~115 %であり、参考のため比較したところ銅全量(T-Cu) Cu-0.001 の回収率は許容範囲内であった。Cu-0.001 の推定定量下限値は質量分率 0.0004 %, 推定検出下限値は質量分率 0.0001 %であると評価できる。

AOAC⁹⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は質量分率 0.001 %で 80 %~115 %及び質量分率

0.0001 %で75 %~120 %であり、参考のため比較したところ水溶性銅(W-Cu)の粉状試料であるCu-0.003の回収率は許容範囲内であったが、液状試料であるCu-0.0001の回収率は許容範囲を超える結果であった。Cu-0.003の推定定量下限値は質量分率0.001 %、推定検出下限値は質量分率0.0005 %であり、Cu-0.0001の推定定量下限値は質量分率0.0003 %、推定検出下限値は質量分率0.0001 %であると評価できる。

表7 定量下限確認試験の成績

| 試験成分 | 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ²⁾ | 平均値 ³⁾ (%) ²⁾ | 回収率 ⁴⁾ (%) | 標準偏差 (%) ²⁾ | 推定定量 下限値 ⁵⁾ (%) ²⁾ | 推定検出 下限値 ⁶⁾ (%) ²⁾ |
|-------|-------------------------|--|--|--------------------------|---------------------------|--|--|
| T- Cu | Cu-0.001 ⁷⁾ | 0.001 | 0.00103 | 103.3 | 0.00004 | 0.0004 | 0.0001 |
| W- Cu | Cu-0.003 ⁷⁾ | 0.003 | 0.00300 | 100.1 | 0.00012 | 0.001 | 0.0005 |
| W- Cu | Cu-0.0001 ⁸⁾ | 0.0001 | 0.000142 | 141.9 | 0.000029 | 0.0003 | 0.0001 |

1) 試料中の銅(Cu)の含有量(理論値)

2) 質量分率

3) 7点併行試験の平均値

4) (平均値/理論値)×100

5) 標準偏差×10

6) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

7) 粉状試料

8) 液状試料

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、該当する試験法で実施された既報の認証標準物質の値付けのための共同試験¹⁰⁾の成績¹¹⁾を適用することとし、それらの成績を表8に示した。

銅全量(T-Cu)の平均値が583 mg/kgでその室間再現標準偏差は22 mg/kg、その相対標準偏差は3.8 %であった。また、銅全量(T-Cu)の試験成績のHorRat値は0.61であった。

なお、AOAC(OMA)⁸⁾における濃度レベルにおける室間再現精度の目安は濃度100 %で2 %、濃度10 %で3 %、濃度1 %で4 %及び濃度0.1 %で6 %であり、参考のため比較したところ銅全量(T-Cu)の室間再現標準偏差(RSD_R)はこれらの目安を下回った。

表8 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験 年度 | 試験 室数 | 平均値 A ¹⁾ (mg/kg) | SD _R B ²⁾ (mg/kg) | RSD _R C ³⁾ (%) | PRSD _R D ⁴⁾ (mg/kg) | HorRat値 E ⁵⁾ |
|------|--------|----------|----------|-----------------------------------|---|--|---|----------------------------|
| T-Cu | 汚泥発酵肥料 | 2012 | 11 | 583 | 22 | 3.8 | 6.1 | 0.61 |

1) 認証値

2) 室間再現標準偏差

3) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$

4) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差

5) HorRat値 $E = C/D$

4. まとめ

銅全量(T-Cu)及び水溶性銅(W-Cu)のフレーム原子吸光度法の真度、定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ、次の結果を得た。

(1) 銅(Cu)として0.03%～0.15%含有する試料についての銅全量(T-Cu)の測定結果は、回収率が99.6%～100.4%であり、設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.4%～0.4%であった。

(2) 銅(Cu)として0.03%～10%含有する粉状試料についての水溶性銅(W-Cu)の測定結果は、回収率が99.4%～102.6%であり、設計値と測定値との差の割合は、質量分率-0.6%～2.6%であった。また、銅(Cu)として0.002%～1%含有する液状試料についての水溶性銅(W-Cu)の測定結果は、回収率が98.8%～101.4%であり、設計値と測定値との差の割合は、質量分率-1.2%～1.4%であった。

(3) 銅全量(T-Cu)について銅(Cu)として0.001%含有する試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率0.0004%、0.0001%程度と推定された。

(4) 水溶性銅(W-Cu)について銅(Cu)として0.003%含有する粉状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率0.001%、0.0005%程度と推定された。また、銅(Cu)として0.0001%含有する液状試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、それぞれ質量分率0.0003%、0.0001%程度と推定された。

(5) 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験より室間再現精度を調査したところ、銅全量(T-Cu)は平均値が583 mg/kgでその室間再現標準偏差は22 mg/kg、その相対標準偏差は3.8%であった。

(1)～(5)の成績は、肥料等試験法に記載された試験法が主要な成分としての銅(Cu)の含有量を評価することができる性能を有していると示しており、クライテリア・アプローチのガイドラインの銅(Cu)試験法の性能規準を作成する際に、これらの試験成績は十分に参考になると考えられた。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>
- 3) 農林水産消費安全技術センター(FAMIC): 肥料等試験法 <<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法(1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 5) 農林水産省告示: 肥料取締法第一七条第一項第三号の規定に基づき、肥料取締法第四条第一項第三号に掲げる普通肥料の保証票にその含有量を記載する主要な成分を定める件, 平成12年1月27日, 農林水産省告示第96号, 最終改正平成13年3月15日, 農林水産省告示第337号(2001)
- 6) 農林水産省告示: 肥料取締法施行規則第十一条の二第一項及び第二項の規定に基づき原料及び材料の保証票への記載に関する事項を定める件, 昭和59年3月16日, 農林水産省告示第700号, 最終改正平成16年1月15日, 農林水産省告示第74号(2004)
- 7) 肥料取締法: 昭和25年5月1日, 法律第127号, 最終改正平成23年8月30日, 法律第105号(2011)
- 8) 農林水産省告示: 特殊肥料の品質表示基準, 平成12年8月31日, 農林水産省告示第1163号, 最終改正平成17年2月28日, 農林水産省告示第364号(2005)
- 9) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and

Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)

- 10) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 11) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人: 2010 年度肥料認証標準物質の開発, 肥料研究報告, **4**, 107~120 (2011)

Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Copper in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Shin ABE¹ and Yoshiyuki SUNAGA²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sendai Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

We verified performance characteristics of testing methods for total copper (T-Cu) and water-soluble copper (W-Cu) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of copper was assured from 3 replicate determinations of 8 fertilizer samples containing 0.002% ~ 10% copper which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 98.8 % ~ 102.6 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.0004 % ~ 0.001 % and 0.0003%, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, mean values, relative standard deviations (SD_R) for reproducibility and relative standard deviations (RSD_R) of T-Cu obtained by collaborative studies were 583 mg/kg, 22 mg/kg and 3.8 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of copper.

Key words criteria approach, copper, atomic absorption spectrometry, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **6**, 165 ~173, 2013)

16 ほう素試験法の性能調査

—アゾメチンH法—

清水 昭¹

キーワード クライテリア・アプローチ, ほう素, アゾメチンH法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準(criteria)を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ(Criteria Approach)と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法(1992年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者は肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 主要な成分のほう素(B_2O_3)^{5, 6)}として規定されているく溶性ほう素(C- B_2O_3)及び水溶性ほう素(W- B_2O_3)のアゾメチンH法の精確さ等の性能規準を調査したので報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料又は肥料中には, ほう素が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表1のとおり出来る限り肥料中の主成分に対応するJIS規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 使用した試薬のうち四ほう酸ナトリウム(無水)はJIS規格に規定されていない試薬であったため, JIS規格に規定されていない試薬特級を用いた. 流通している肥料の配合割合を参考に表2のとおり試薬を混合し, ほう素(B_2O_3)として0.01%~10%含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 紫外可視吸光光度計: 島津製作所 UVmini-1240
- (2) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: 三喜製作所 RS-12
- (3) ホットプレート: 柴田科学 NP-6

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター名古屋センター (現)肥飼料安全検査部

表1 試料の調製に使用する試薬

| 使用する試薬 | | 対応する原材料名 | |
|--------------------------|--------------|-------------|---------|
| 名称 | 規格 | 名称又は種類名(材料) | 慣用名 |
| 硫酸アンモニウム | JIS K8960 特級 | 硫酸アンモニア | 硫安 |
| 尿素 | JIS K8731 特級 | 尿素 | 尿素 |
| りん酸二水素カリウム | JIS K9017 特級 | 化成肥料 | |
| 硫酸カリウム | JIS K8962 特級 | 硫酸加里 | 硫加 |
| 硫酸マグネシウム七水和物 | JIS K8995 特級 | 硫酸苦土肥料 | |
| 硫酸マンガン五水和物 | JIS K8997 特級 | 硫酸マンガン肥料 | |
| 四ほう酸ナトリウム(無水) | | ほう酸塩肥料 | |
| ほう酸 | JIS K8863 特級 | ほう酸肥料 | |
| 硫酸カルシウム二水和物 | JIS K8107 特級 | 組成均一化促進材 | 石こう |
| エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物 | JIS K8107 特級 | 沈殿防止材 | EDTA-Na |

表2-1 試験に用いた試料の配合割合(く溶性ほう素) (質量分率%)

| 使用する試薬 | 真度試験 | | 定量下限確認用試料 |
|-----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | C-B ₂ O ₃ -10 | C-B ₂ O ₃ -0.05 | C-B ₂ O ₃ -0.01 |
| 硫酸アンモニウム | 23.703 | 47.406 | 47.406 |
| りん酸二水素カリウム | 9.915 | 24.788 | 24.788 |
| 硫酸カリウム | 3.158 | 12.577 | 12.577 |
| 硫酸マグネシウム七水和物 | 12.294 | 6.147 | 6.147 |
| 硫酸マンガン五水和物 | 35.036 | 0.357 | 0.357 |
| 四ほう酸ナトリウム(無水) | 15.045 | 0.075 | 0.015 |
| 硫酸カルシウム二水和物 | 0.85 | 8.65 | 8.71 |
| B ₂ O ₃ 含有量 | 10 | 0.05 | 0.01 |

表2-2 試験に用いた試料の配合割合(水溶性ほう素) (質量分率%)

| 使用する試薬 | 真度試験 | | 定量下限確認用試料 |
|-----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | W-B ₂ O ₃ -10 | W-B ₂ O ₃ -0.05 | W-B ₂ O ₃ -0.01 |
| 尿素 | 10.826 | 21.653 | 21.653 |
| りん酸二水素カリウム | 12.394 | 24.788 | 24.788 |
| 硫酸カリウム | 6.279 | 12.577 | 12.577 |
| 硫酸マグネシウム七水和物 | 30.735 | 30.735 | 30.735 |
| 硫酸マンガン五水和物 | 17.518 | 0.35 | 0.35 |
| ほう酸 | 17.851 | 0.089 | 0.018 |
| EDTA-Na ¹⁾ | 4.4 | 9.81 | 9.88 |
| 水 | | | |
| B ₂ O ₃ 含有量 | 10 | 0.05 | 0.01 |

1) エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物

3) 試薬の調製

(1) 水: 水精製装置(Merck Millipore Elix Advantage5)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。

- (2) くえん酸溶液(20 mg/mL): JIS K 8283 に規定するくえん酸一水和物 20 g を水に溶かして 1,000 mL とした。
- (3) エチレンジアミン四酢酸塩溶液: JIS K 8107 に規定するエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水和物 37.2 g を水に溶かして 1,000 mL とした。
- (4) 酢酸アンモニウム溶液: JIS K 8359 に規定する酢酸アンモニウム 250 g を水に溶かして 500 mL とし、硫酸(1+4)で pH を 5.2 ± 0.1 に調整した。
- (5) アズメチン H 溶液: アズメチン H 0.6 g 及び JIS K 9502 に規定する L(+)-アスコルビン酸 2 g に水を加え、 $35 \text{ }^{\circ}\text{C} \sim 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ に加温して溶かし、冷却後水を加えて 100 mL とした。
- (6) ほう素標準液(B_2O_3 2.5 mg/mL): JIS K 8863 に規定するほう酸をデシケーター中に約 24 時間放置して乾燥した後 4.441 g ひょう量皿にとる。少量の水で溶かし、全量フラスコ 1,000 mL に移し入れ、標線まで水を加えた。
- (7) ほう素標準液(B_2O_3 0.05 mg/mL): ほう素標準液(B_2O_3 2.5 mg/mL) の一定量を水で正確に 50 倍に希釈した。
- (8) その他の試薬: 肥料等試験法³⁾に従った。

4) 試験成分及び試験方法

く溶性ほう素(C- B_2O_3)及び水溶性ほう素(W- B_2O_3)の抽出及び測定は表 3 のとおり肥料等試験法の試験方法を用いた。なお、参考のため、試験法のフローシート(図 1~2)を示した。

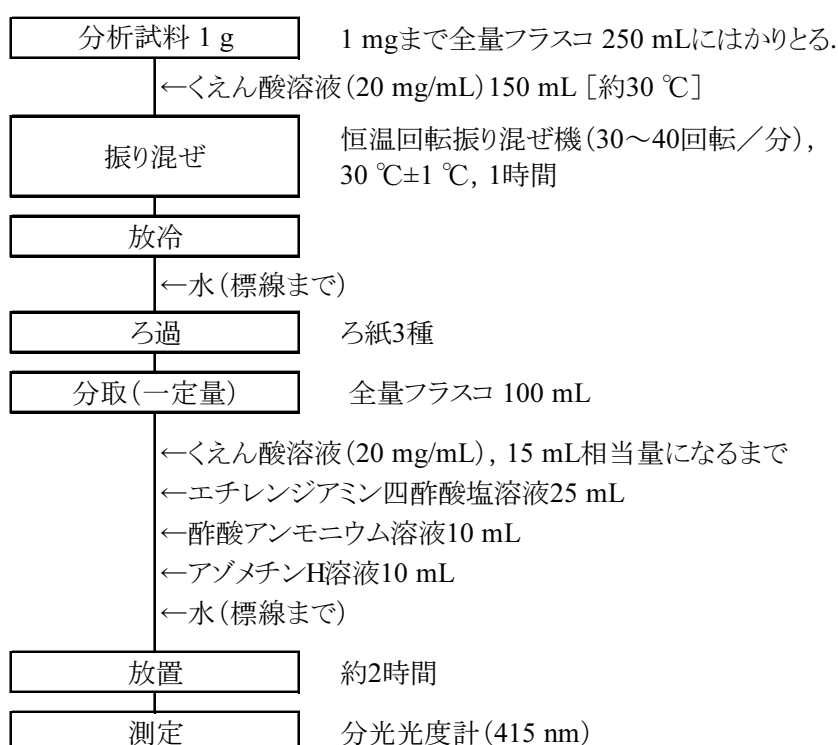


図 1 肥料中のく溶性ほう素試験法フローシート

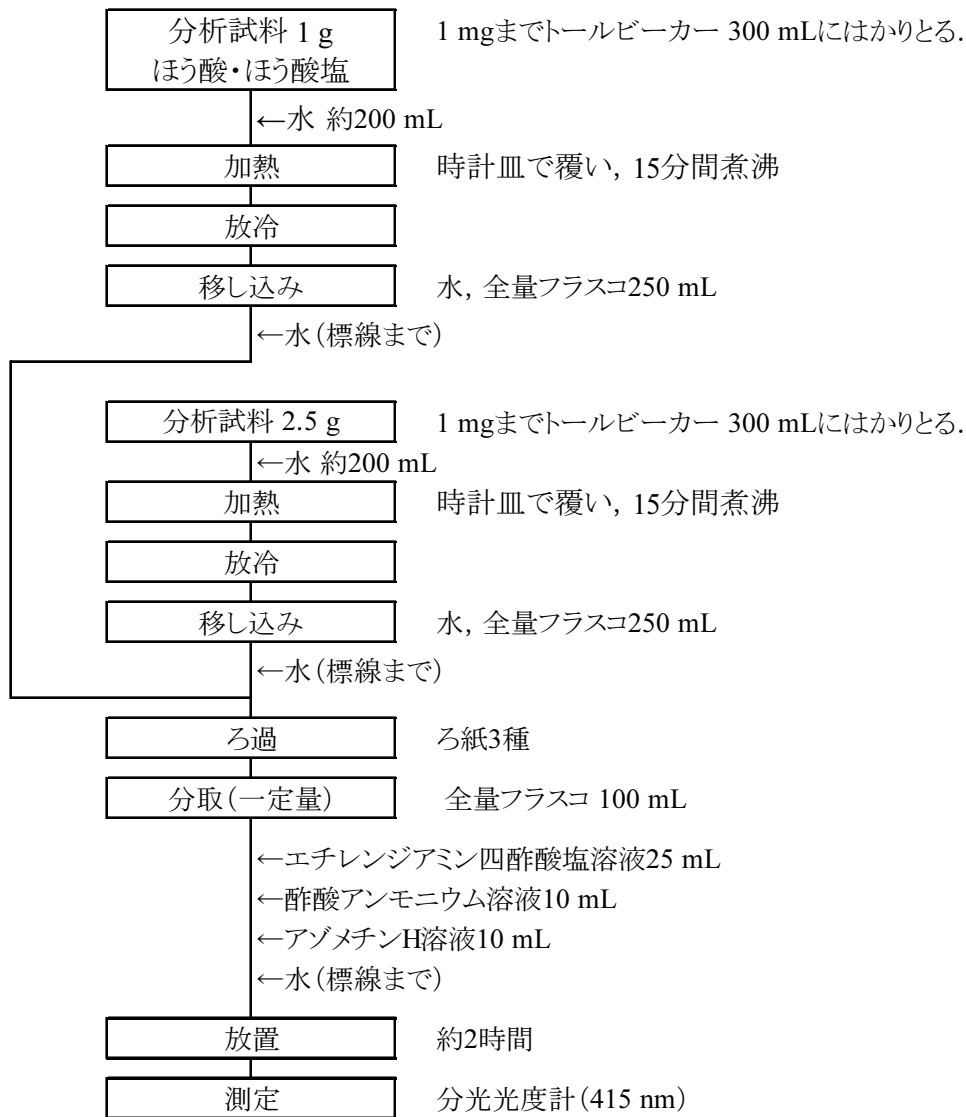


図2 肥料中の水溶性ほう素試験法フローシート

表3 試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 肥料等試験法の項目 | 試料溶液の調製方法 |
|--|-----------------|-----------------------------------|
| く溶性ほう素(C-B ₂ O ₃) | 4.8.1.a アゾメチンH法 | (4.1) くえん酸溶液(20 mg/mL) 回転振とう(30℃) |
| 水溶性ほう素(W-B ₂ O ₃) | 4.8.2.a アゾメチンH法 | (4.1) 煮沸 |

3. 結果及び考察

1) 試料の調製に用いた四ほう酸ナトリウム(無水)及びほう酸中のほう素の含有量

試料の調製に用いた四ほう酸ナトリウム(無水)及びほう酸中のほう素の含有量を肥料等試験法(く溶性ほう素及び水溶性ほう素:表3)により3点併行で測定した結果を表4に示した. 平均値より算出した理論値に対する割合は質量分率99.7%及び101.3%であり, その相対標準偏差は0.4%~0.9%と小さかった. 試料の調製には理論値を用いて配合設計を行ったが, ほう素(B₂O₃)の含有量は算出した純度を用いることとした.

表4 試料の調製に用いた四ほう酸ナトリウム(無水)及びほう酸中のほう素の測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾ | 標準偏差 (%) ⁴⁾ | 理論値に 対する割合 ³⁾ (%) | 相対標 準偏差 (%) |
|---------------|--|--|---------------------------|------------------------------------|-------------------|
| 四ほう酸ナトリウム(無水) | 67.82 | 67.61 | 0.59 | 99.7 | 0.9 |
| ほう酸 | 56.30 | 57.01 | 0.21 | 101.3 | 0.4 |

- 1) く溶性ほう素試験に用いた四ほう酸ナトリウム(無水)中及び水溶性ほう素試験に用いたほう酸中のほう素(B₂O₃)の理論値
- 2) く溶性ほう素(C-B₂O₃)または水溶性ほう素(W-B₂O₃)の3点併行試験の平均値
- 3) (平均値/理論値)×100
- 4) 質量分率

2) 真度評価結果

真度評価用試料を用いて 3 点併行でく溶性ほう素(C-B₂O₃)及び水溶性ほう素(W-B₂O₃)の試験を実施した成績を表 5 に示した。

肥料取締法⁷⁾において、保証成分量(含有する主成分の最小量)を生産業者保証票又は輸入業者保証票(以下、「保証票」という)に記載することを普通肥料(汚泥肥料等を除く)の生産又は輸入した業者(以下、「生産業者等」という)に義務づけている。よって、ほう素(B₂O₃)の設計値と各試験法の測定値の差について算出した。ほう素(B₂O₃)として 0.05%~10 %含有する試料についてそれぞれの試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率 0 %~0.18 %であり、設計値に対する回収率は、95.7 %~107.1 %であった。このことから、これらの試験法は、普通肥料(指定配合肥料を含む)のほう素(B₂O₃)の保証成分量の評価を得るのに十分な正確さを有していることが確認された。

なお、AOAC⁸⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は濃度 10 %で 95 %~102 %, 0.1 %で 90 %~108 %及び 0.01 %で 85 %~110 %であり、参考のため比較したところほう素(B₂O₃)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中のほう素(B₂O₃)の試験成績

| 試験成分 | 試料 | 設計値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | 測定値 B ³⁾ (%) ²⁾ | 設計値と の差 C ⁴⁾ (%) ²⁾ | 差の割合 D ⁵⁾ (%) | 回収率 E ⁶⁾ (%) | 標準偏差 F ⁷⁾ (%) ²⁾ | 相対 標準偏差 G ⁸⁾ (%) |
|---------------------------------|-------------------------------------|--|--|---|-----------------------------|----------------------------|---|-----------------------------------|
| C-B ₂ O ₃ | B ₂ O ₃ -10 | 10 | 10.15 | 0.15 | 1.5 | 101.5 | 0.09 | 0.9 |
| | B ₂ O ₃ -0.05 | 0.05 | 0.048 | -0.002 | -4.3 | 95.7 | 0.00 | 0.3 |
| W-B ₂ O ₃ | B ₂ O ₃ -10 | 10 | 10.18 | 0.18 | 1.8 | 101.8 | 0.03 | 0.3 |
| | B ₂ O ₃ -0.05 | 0.05 | 0.054 | 0.004 | 7.1 | 107.1 | 0.00 | 1.0 |

- 1) 試料中のほう素(B₂O₃)の含有量(設計値)
- 2) 質量百分率
- 3) 3点併行試験の平均値
- 4) C=B-A
- 5) D=(C/A)×100
- 6) E=(B/A)×100
- 7) 3点併行試験の標準偏差
- 8) G=(F/B)×100

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料を用いて 7 点併行でく溶性ほう素 (C-B₂O₃) 及び水溶性ほう素 (W-B₂O₃) 試験を実施した結果を表 6 に示した. なお, 定量下限は「(標準偏差)×10」式, また, 検出下限は「(標準偏差)×2×t(n-1,0.05)」式を用いて算出した.

普通肥料の公定規格において普通肥料(窒素質肥料, 配合肥料, 液状複合肥料, 液体微量要素複合肥料, 家庭園芸用複合肥料を除く)のほう素 (B₂O₃) の含有すべき主成分の最小量並びに肥料取締法施行規則において指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く)のほう素 (B₂O₃) の保証できる最小量は 0.05 % 又は 0.10 % と規定されている. く溶性ほう素 (C-B₂O₃) 及び水溶性ほう素 (W-B₂O₃) の定量下限値はいずれも 0.02 % と推定されたことから, この試験法はそれらの肥料の含有量の評価を得るのに十分な定量範囲を有していることが確認された.

表6 定量下限確認試験の成績 (質量分率 %)

| 試験成分 | 試料 | 設計値 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ | 標準偏差 | 推定定量 下限値 ³⁾ | 推定検出 下限値 ⁴⁾ |
|---------------------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|--------|---------------------------|---------------------------|
| C-B ₂ O ₃ | B ₂ O ₃ | 0.01 | 0.0113 | 0.0024 | 0.02 | 0.009 |
| W-B ₂ O ₃ | B ₂ O ₃ | 0.01 | 0.0091 | 0.0018 | 0.02 | 0.007 |

1) 試料中のほう素 (B₂O₃) の含有量 (設計値)

2) 7点併行試験の平均値

3) 標準偏差×10

4) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが, 試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる. このことから, 既報の外部精度管理試験¹²⁾のうち該当する試験法で実施された成績^{13~16)}及び認証標準物質の値付けのための共同試験¹⁷⁾の成績¹⁸⁾を適用することとし, それらの成績を表 7 及び表 8 に示した. なお, 外部精度管理試験では, ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差 (NIQR) が算出されている. 中央値及び NIQR は正規分布において平均値及び標準偏差に一致する.

く溶性ほう素 (C-B₂O₃) 及び水溶性ほう素 (W-B₂O₃) の中央値又は平均値が質量分率 0.209 % ~ 0.400 % の範囲でその標準化された四分位範囲又は室間再現標準偏差は質量分率 0.006 % ~ 0.017 %, その相対標準偏差は 2.9 % ~ 5.6 % であった. また, く溶性ほう素 (C-B₂O₃) 及び水溶性ほう素 (W-B₂O₃) の試験成績の HorRat 値は 0.59 ~ 1.16 であった.

なお, AOAC (OMA)⁸⁾における濃度レベルにおける室間再現精度の目安は濃度 1 % で 4 % 及び濃度 0.1 % で 6 % であり, 参考のため比較したところく溶性ほう素 (C-B₂O₃) 及び水溶性ほう素 (W-B₂O₃) の室間再現標準偏差はこれらの目安を下回った.

表7 外部精度管理試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験年度 | 試験室数 | 中央値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | NIQR B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|---------------------------------|--------|------|------|--|---|---|-----------------------------|----------------------------|
| C-B ₂ O ₃ | 普通化成肥料 | 2009 | 120 | 0.281 | 0.016 | 5.6 | 4.8 | 1.16 |
| W-B ₂ O ₃ | 普通化成肥料 | 2006 | 132 | 0.400 | 0.017 | 4.2 | 4.6 | 0.91 |
| | 高度化成肥料 | 2008 | 119 | 0.260 | 0.007 | 2.9 | 4.9 | 0.58 |
| | 高度化成肥料 | 2010 | 116 | 0.291 | 0.010 | 3.4 | 4.8 | 0.70 |

- 1) 中央値
- 2) 質量分率
- 3) ロバスト標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

表8 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験年度 | 試験室数 | 平均値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | SD _R B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | SD(P) D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|---------------------------------|--------|------|------|--|--|---|------------------------------|----------------------------|
| C-B ₂ O ₃ | 高度化成肥料 | 2010 | 11 | 0.209 | 0.006 | 3.1 | 5.1 | 0.61 |

- 1) 認証値
- 2) 質量分率
- 3) 室間再現標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

4. まとめ

く溶性ほう素(C-B₂O₃)及び水溶性ほう素(W-B₂O₃)のアゾメチン H 法の真度及び定量・検出下限を調査したところ、次の結果を得た。

(1) ほう素(B₂O₃)として0.05%～10%含有する試料についてそれぞれの試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率0.00%～0.18%であり、設計値に対する回収率は、95.3%～107.1%であった。

(2) ほう素(B₂O₃)含有量(B₂O₃ 0.01%)に調製した試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、質量分率0.02%及び0.007%～0.009%程度と推定された。

(3) 外部精度管理試験及び肥料認証標準物質の値付けのための共同試験より室間再現精度を調査したところ、く溶性ほう素(C-B₂O₃)及び水溶性ほう素(W-B₂O₃)は、中央値又は平均値が質量分率0.209%～0.400%の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率0.006%～0.017%、その相対標準偏差は2.9%～5.6%であった。

(1)～(3)の成績は、肥料等試験法に記載された試験法が主要な成分としてのほう素の含有量を評価することができる性能を有していると示しており、クライテリア・アプローチにおける試験法の性能規準の資料に適用できると考えられた。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>
- 3) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC) : 肥料等試験法 <<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法(1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 5) 肥料取締法施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改平成 18 年 3 月 23 日, 政令第 51 号 (2006)
- 6) 農林水産省告示: 肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和 59 年 3 月 16 日, 農林水産省告示第 695 号, 最終改正平成 11 年 5 月 13 日, 農林水産省告示第 704 号 (1999)
- 7) 肥料取締法: 昭和 25 年 5 月 1 日, 法律第 127 号, 最終改平成 23 年 8 月 30 日, 法律第 105 号(2011)
- 8) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
<http://www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf>
- 9) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
<www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>
- 10) 農林水産省告示: 肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林省告示第 1985 号 (2012)
- 11) 農林水産省令: 肥料取締法施行規則, 昭和 25 年 6 月 20 日, 農林水産省令第 64 号, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林水産省令第 44 号 (2012)
- 12) ISO 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons” (JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」)
- 13) 杉村 靖, 加藤公栄, 齊木雅一, 阿部文浩, 伊藤 潤, 内山 丈, 白井裕治, 引地典雄, 杉原 進: 2006 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **1**, 138～151 (2008)
- 14) 高橋雄一, 加藤公栄, 井塚進次郎, 清水 昭, 井上智江, 内山 丈, 白井裕治, 上沢正志: 2008 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **2**, 97～115 (2009)
- 15) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 井上智江, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志: 2009 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **3**, 73～94 (2010)
- 16) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志: 2010 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **4**, 85～106 (2011)
- 17) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 18) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人: 2010 年度 肥料認証標準物質の開発, 肥料研究報告, **4**, 107～120 (2011)

Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Boron Content by Azomethine H Absorption Photometry

Akira SHIMIZU¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

We verified performance characteristics of testing method for citric acid-soluble boron (C-B₂O₃) and water-soluble boron (W-B₂O₃) by azomethine H absorption photometry described in Testing Method for Fertilizers. The accuracy testing method for the several form of boron was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 0.05 % ~ 10 % boron (as B₂O₃) which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 95.3 % to 107.1 %. On the basis of 7 replicate measurements of each testing method of a solid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.02 %. Reported in Research Report of Fertilizer, medians, normalize ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of C-B₂O₃ and W-B₂O₃ obtained by proficiency testings were 0.209 % ~ 0.400 %, 0.006 % ~ 0.017 % and 2.9 % ~ 5.6 %, respectively. These results indicated that the method performance characteristic were available in establishing criteria for a determination method of boron.

Key words criteria approach, boron, azomethine H method, Testing Methods of Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, **6**, 174~182, 2013)

17 石灰及びカルシウム試験法の性能調査

—フレイム原子吸光法—

五十嵐総一¹ 木村康晴²

キーワード クライテリア・アプローチ, 石灰, カルシウム, フレイム原子吸光法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準 (criteria) を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ (Criteria Approach) と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法 (1992 年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 石灰 (CaO)⁵⁾⁶⁾として規定されている石灰全量 (T-CaO), 可溶性石灰 (S-CaO) 及び水溶性カルシウム (W-CaO) のフレイム原子吸光法の精確さ等の性能を調査したので報告する. なお, 効果発現促進材に含有する水溶性カルシウムが (W-Ca) として評価されているが, 今調査では便宜上 (W-CaO) として評価する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には石灰が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表 1 のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 粒状の試薬は乳鉢を用いて粉砕した. 流通している肥料の配合割合を参考に表 2 のとおり試薬を混合し, 石灰 (CaO) として質量分率 0.2 % ~ 20 % 含有する試料を調製した. また, 試薬を水に溶かして石灰 (CaO) として質量分率 0.02 % 含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 原子吸光分析装置: 日本ジャーレル・アッシュ SOLAAR S4
- (2) マッフル: ヤマト科学 FO610
- (3) ホットプレート: 柴田科学 NP-6

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター (現) 肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

- (4) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機：(別注品)
 (5) 上下転倒式回転振り混ぜ機：増田理化工業 MK-41

表1 試料の調製に使用した試薬

| 使用する試薬 | | 対応する原材料名 | |
|--------------------------|--------------|-------------|---------|
| 名称 | 規格 | 名称又は種類名(材料) | 慣用名 |
| 水酸化カルシウム | 特級 | 水酸化カルシウム | 消石灰 |
| 炭酸カルシウム | 特級 | 炭酸カルシウム | |
| 酢酸カルシウム一水和物 | JIS K8364 特級 | 酢酸カルシウム一水和物 | |
| 硫酸アンモニウム | JIS K8960 特級 | 硫酸アンモニア | 硫安 |
| 尿素 | JIS K8731 特級 | 尿素 | |
| 硫酸マンガン | JIS K8997 特級 | 硫酸マンガン | |
| 硫酸マグネシウム | JIS K8995 特級 | 硫酸マグネシウム | |
| りん酸マグネシウム | 鹿一級 | りん酸マグネシウム | |
| 硫酸ナトリウム | 残留農薬・PCB試験用 | 硫酸ナトリウム | |
| ほう酸 | JIS K8863 特級 | ほう酸 | |
| りん酸水素二アンモニウム | JIS K9016 特級 | りん酸アンモニア | DAP |
| 硫酸カリウム | JIS K8962 特級 | 硫酸加里 | 硫加 |
| エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物 | JIS K8107 特級 | 沈殿防止材 | EDTA-Na |
| でん粉 | 鹿一級 | でん粉 | |
| ゼラチン末 | 鹿一級 | ゼラチン末 | |
| グルコース | JIS K8824 特級 | グルコース | |

表2 試験に用いた試料の配合割合

(質量分率 %)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | | | | | 定量下限確認用試料 | | | |
|-----------------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| | T-CaO -15 | T-CaO -1 | S-CaO -20 | S-CaO -1 | W-CaO -5 | W-CaO -1 | T-CaO -0.2 | S-CaO -0.2 | W-CaO -0.2 | W-CaO -0.02 |
| 水酸化カルシウム | 19.62 | 1.31 | | | | | 0.26 | | | |
| 炭酸カルシウム | | | 35.52 | 1.78 | | | | 0.36 | | |
| 酢酸カルシウム一水和物 | | | | | 15.55 | 3.11 | | | 0.62 | 0.06 |
| 硫酸アンモニウム | 10.00 | 10.00 | | | 2.00 | 2.00 | 10.00 | | 2.00 | 2.00 |
| 尿素 | | | | | 2.00 | 2.00 | | | 2.00 | 2.00 |
| 硫酸マンガン | | | 3.00 | 3.00 | | | | 3.00 | | |
| 硫酸マグネシウム | | | 3.00 | 3.00 | | | | 3.00 | | |
| りん酸マグネシウム | | | 10.00 | 10.00 | | | | 10.00 | | |
| 硫酸ナトリウム | | | 40.00 | 40.00 | 30.00 | 40.00 | | 40.00 | 40.00 | |
| ほう酸 | | | 3.00 | 3.00 | | | | 3.00 | | |
| りん酸水素二アンモニウム | 10.00 | 10.00 | | | 2.00 | 2.00 | 10.00 | | 2.00 | 2.00 |
| 硫酸カリウム | 1.00 | 1.00 | | | 2.00 | 2.00 | 1.00 | | 2.00 | 2.00 |
| EDTA-Na ¹⁾ | | | | | 2.00 | 2.00 | | | | |
| でん粉 | 29.38 | 37.69 | | | | | 40.00 | 40.64 | | |
| ゼラチン | 30.00 | 40.00 | | | | | 38.74 | | | |
| グルコース | | | 5.48 | 39.22 | 44.45 | 46.89 | | | 51.38 | |
| 水 | | | | | | | | | | 91.94 |
| CaO含有量 | 15 | 1 | 20 | 1 | 5 | 1 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.02 |

1) エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物

3) 試薬の調製

(1) 水：水精製装置 (ADVANTEC RDF240NA) を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。

(2) カルシウム標準液 (Ca 1 mg/mL)：カルシウム標準液 (Ca: 1,000 mg/L) (和光純薬工業; JCSS) を使用した。

(3) 検量線用カルシウム標準液：カルシウム標準液 (Ca 1 mg/mL) を段階的にとり、最終希釈液に調製する容量の 1/10 容量の干渉抑制剤溶液をそれぞれ加え、水で希釈して検量線用カルシウム標準液 (Ca 10, 20, 30, 40 µg/mL) を調製した。

(4) 検量線用空試験液：干渉抑制剤溶液一定量をとって、水で 10 倍に希釈した。

(5) 干渉抑制剤溶液：JIS K8132 に規定する塩化ストロンチウム六水和物 152.1g をビーカー 2,000 mL にはかりとり、少量の水を加え、塩酸 420 mL を徐々に加えて溶かし、更に水を加えて 1,000 mL とした。

(6) その他の試薬：肥料等試験法³⁾に従った。

4) 試験成分及び試験方法

石灰全量 (T-CaO)、可溶性石灰 (S-CaO) 及び水溶性カルシウム (W-CaO) の抽出及び測定は表 3 のとおり肥料等試験法³⁾の各試験方法を用いた。なお、参考のため、各試験法のフローシート (図 1~3) を示した。

表3 試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 肥料等試験法の項目 | 試料溶液の抽出方法 |
|-----------------|-------------------|---------------------|
| 石灰全量(T-CaO) | 4.5.1.a フレイム原子吸光法 | (4.1) 灰化・塩酸煮沸 |
| 可溶性石灰(S-CaO) | 4.5.2.a フレイム原子吸光法 | (4.1) 塩酸(1+23)で煮沸抽出 |
| 水溶性カルシウム(W-CaO) | 4.5.3.a フレイム原子吸光法 | (4.1) 水で回転振とう抽出 |

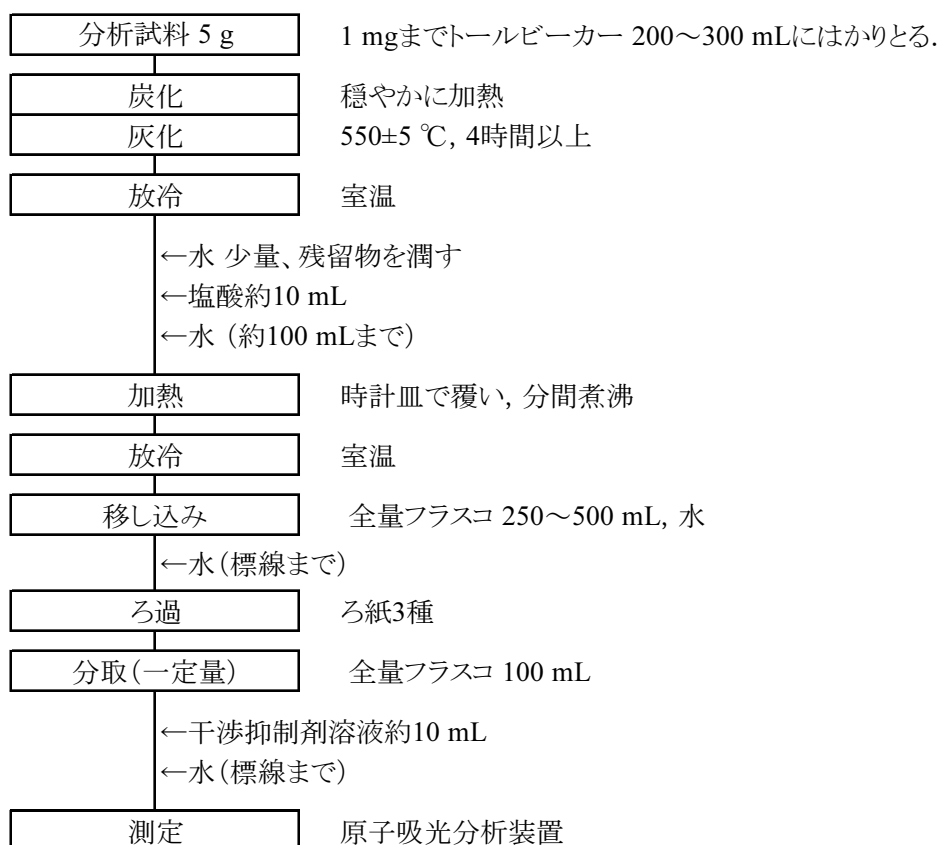


図1 肥料中の石灰全量試験法フローシート

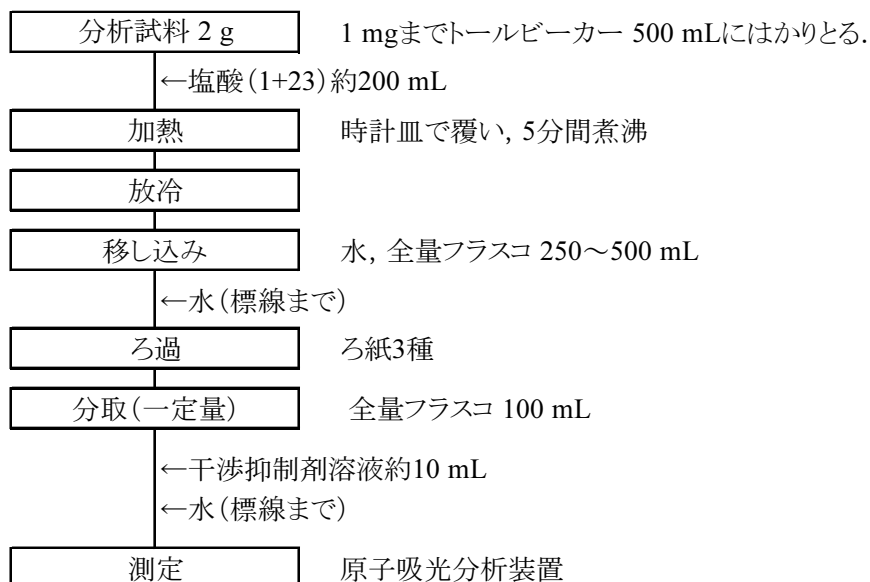


図2 肥料中の可溶性石灰試験法フローシート

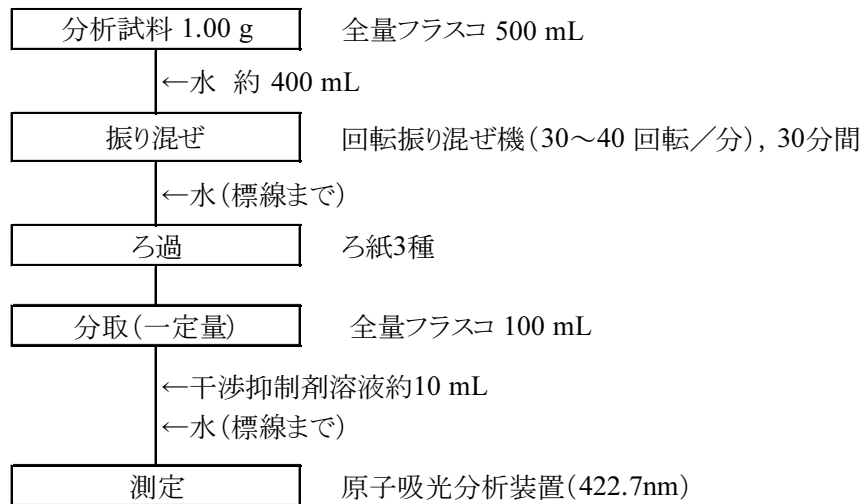


図3 肥料中の水溶性カルシウム試験法フローシート

3. 結果及び考察

1) 試料の調製に用いた水酸化カルシウム、炭酸カルシウム及び酢酸カルシウム中の石灰含有量

試料の調製に用いた水酸化カルシウム、炭酸カルシウム及び酢酸カルシウム中の含有量を肥料等試験法により3点併行で測定した結果を表4に示した。平均値より算出した理論値に対する割合は各々、試薬の表示値を満たしており、その相対標準偏差は0.2%~0.4%と小さかった。このため、試料の調製では理論値を用いて配合設計を行い、石灰(CaO)の含有量は表示純度を使用した。

表4 試料の調製に用いた試薬中の石灰(CaO)の測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾ | 標準偏差 (%) ⁴⁾ | 理論値に | | 相対標準 偏差 |
|-------------|--|--|---------------------------|----------------------------|---------------------------|------------|
| | | | | 対する割合 ³⁾ (%) | 表示純度 (%) ⁴⁾ | |
| 水酸化カルシウム | 75.69 | 74.17 | 0.14 | 98.0 | 96.0 以上 | 0.2 |
| 炭酸カルシウム | 56.03 | 56.14 | 0.21 | 100.2 | 99.5 以上 | 0.4 |
| 酢酸カルシウム一水和物 | 31.83 | 32.28 | 0.14 | 101.4 | min 99.0 | 0.4 |

- 1) 試薬中の石灰(CaO)理論値
- 2) 石灰(CaO)の3点併行試験の平均値
- 3) (平均値/理論値)×100
- 4) 質量分率

2) 真度評価結果

真度評価用試料(表1及び表2参照)を用いて3点併行で石灰全量(T-CaO)、可溶性石灰(S-CaO)及び水溶性カルシウム(W-CaO)の試験を実施した成績を表5に示した。

肥料取締法⁷⁾において、保証成分量(含有する主成分の最小量)を生産業者保証票又は輸入業者保証票(以下、「保証票」という)に記載することを普通肥料(汚泥肥料等を除く)の生産又は輸入した業者(以下、「生産業者等」という)に義務づけている。よって、石灰(CaO)の設計値と各試験法の測定値の差について算出した。石灰(CaO)として質量分率1%~20%含有する試料についてそれぞれの試験方法で測定したところ、設計値と

測定値との差は試料(CaO質量分率5%及び1%)で質量分率-0.10%~0.01%であり、石灰(CaO)含有量の多い試料(CaO質量分率20%及び15%)では質量分率0.17%~0.27%であった。また、設計値に対する回収率は97.9%~101.8%であった。

このことから、これらの試験法は、普通肥料(指定配合肥料を含む)のアルカリ分に相当する石灰(CaO)の保証成分量の評価を得るのに十分な正確さを有していることが確認された。

なお、AOAC⁸⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は濃度100%で98%~101%、濃度10%で95%~102%及び濃度1%で92%~105%であり、参考のため比較したところ石灰(CaO)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中の石灰(CaO)の試験成績

| 試験成分 | 試料 | 設計値 | 測定値 | 設計値との差 | 差の割合 | 回収率 | 標準偏差 | 相対標準偏差 |
|-------|--------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------|
| | | A ¹⁾ (%) ²⁾ | B ³⁾ (%) ²⁾ | C ⁴⁾ (%) ²⁾ | D ⁵⁾ (%) | E ⁶⁾ (%) | F ⁷⁾ (%) ²⁾ | G ⁸⁾ (%) |
| T-CaO | CaO-15 | 15 | 15.27 | 0.27 | 1.8 | 101.8 | 0.23 | 1.5 |
| | CaO-1 | 1 | 0.98 | -0.02 | -2.1 | 97.9 | 0.02 | 1.8 |
| S-CaO | CaO-20 | 20 | 20.17 | 0.17 | 0.9 | 100.9 | 0.12 | 0.6 |
| | CaO-1 | 1 | 1.01 | 0.01 | 1.1 | 101.1 | 0.01 | 0.8 |
| W-CaO | CaO-5 | 5 | 4.90 | -0.10 | -1.9 | 98.1 | 0.04 | 0.9 |
| | CaO-1 | 1 | 1.01 | 0.01 | 1.1 | 101.1 | 0.01 | 1.3 |

1) 試料中の石灰(CaO)の含有量(設計値)

2) 質量分率

3) 3点併行試験の平均値

4) $C=B-A$

5) $D=(C/A) \times 100$

6) $E=(B/A) \times 100$

7) 3点併行試験の標準偏差

8) $G=(F/B) \times 100$

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料(表1,2)を用いて7点併行で石灰全量(T-CaO)、可溶性石灰(S-CaO)及び水溶性カルシウム(W-CaO)の試験を実施した結果を表6に示した。なお、定量下限は(標準偏差) $\times 10$ 、また、検出下限は(標準偏差) $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ を用いて算出した⁹⁾。

普通肥料の公定規格¹⁰⁾において、石灰分の保証は設定されていないが、軽量気泡コンクリート粉末肥料でのアルカリ分の最低保証成分量は15%であり、汚泥肥料での表示義務が生じる濃度15%からみて本測定法は十分な性能を有していることが確認できた。また、効果発現促進材としては、カルシウム濃度で質量分率0.01%~数%程度使用されている実態からみて、今回、確認した定量下限は石灰(CaO)濃度として、質量分率0.05%~0.07%であり、カルシウム(Ca)濃度として質量分率0.03%~0.05%でありほとんどの場合、測定可能であった。

表6 定量下限確認試験の成績 (質量分率%)

| 試験成分 | 試料 | 設計値 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ | 標準偏差 | 推定定量 下限値 ³⁾ | 推定検出 下限値 ⁴⁾ |
|-------|----------|-------------------|-------------------|--------|---------------------------|---------------------------|
| T-CaO | CaO-0.2 | 0.2 | 0.185 | 0.005 | 0.05 | 0.02 |
| S-CaO | CaO-0.2 | 0.2 | 0.187 | 0.005 | 0.05 | 0.02 |
| W-CaO | CaO-0.2 | 0.2 | 0.202 | 0.007 | 0.07 | 0.03 |
| W-CaO | CaO-0.02 | 0.02 | 0.0098 | 0.0040 | 0.04 | 0.02 |

- 1) 試料中の石灰(CaO)の含有量(設計値)
- 2) 7点併行試験の平均値
- 3) 標準偏差×10
- 4) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、既報の外部精度管理試験¹¹⁾のうち該当する試験法で実施された成績^{12~14)}及び認証標準物質の値付けのための共同試験¹⁵⁾の成績¹⁶⁾を適用することとし、それらの成績を表7及び表8に示した。なお、外部精度管理試験では、ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差(NIQR)が算出されている。中央値及びNIQRは正規分布において平均値及び標準偏差に一致する。

石灰全量(T-CaO)及び可溶性石灰(S-CaO)の中央値又は平均値が質量分率5.82%~41.64%の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率0.29%~0.90%、その相対標準偏差は1.9%~5.0%であった。また、石灰全量(T-CaO)及び可溶性石灰(S-CaO)の試験成績のHorRat値は0.82~1.63であった。

なお、AOAC(OMA)⁸⁾における濃度レベルにおける室間再現精度の目安は濃度100%で2%、濃度10%で3%、濃度1%で4%及び濃度0.1%で6%であり、参考のため比較したところ石灰全量(T-CaO)及び可溶性石灰(S-CaO)の室間再現標準偏差はこれらの目安を下回った。

表7 外部精度管理試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験 年度 | 試験 室数 | 中央値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | NIQR B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|-------|-----------|----------|----------|--|---|---|-----------------------------|----------------------------|
| S-CaO | 鉍さいけい酸質肥料 | 2009 | 58 | 32.68 | 0.90 | 2.8 | 2.4 | 1.16 |
| | 鉍さいけい酸質肥料 | 2010 | 60 | 41.64 | 0.78 | 1.9 | 2.3 | 0.82 |
| | 鉍さいけい酸質肥料 | 2011 | 55 | 40.78 | 0.79 | 1.9 | 2.3 | 0.85 |

- 1) 中央値
- 2) 質量分率
- 3) ロバスト標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

表8 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験 年度 | 試験 室数 | 平均値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | SD _R B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|-------|--------|----------|----------|--|--|---|-----------------------------|----------------------------|
| T-CaO | 汚泥発酵肥料 | 2009 | 10 | 5.82 | 0.29 | 5.0 | 3.1 | 1.63 |

- 1) 認証値
- 2) 質量分率
- 3) 室間再現標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

4. まとめ

石灰全量(T-CaO), 可溶性石灰(S-CaO)及び水溶性カルシウム(W-CaO)のフレイム原子吸光法の真度, 定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ, 次の結果を得た.

(1) 石灰(CaO)として質量分率 1 %~20 %含有する試料についてそれぞれの試験方法で測定したところ, 設計値と測定値との差は試料(CaO 質量分率 5 %及び 1 %)で質量分率-0.10 %~0.01 %であり, 石灰(CaO)含有量の多い試料(CaO 質量分率 20 %及び 15 %)では質量分率 0.17 %~0.27 %であった. また, 設計値に対する回収率は 97.9 %~101.8 %であった.

(2) 粉状試料(CaO 質量分率 0.2 %)を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ, 質量分率 0.05 %~0.07 %及び 0.02 %~0.03 %であった. また, 液状試料(W-CaO 質量分率 0.02 %)の定量下限及び検出下限は質量分率 0.04 %及び 0.02 %程度と推定された.

(3) 外部精度管理試験の共同試験より室間再現精度を調査したところ, 石灰全量(T-CaO)及び可溶性石灰(S-CaO)は, 中央値が質量分率 5.82%~41.64 %の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率 0.29 %~0.90 %, その相対標準偏差は 1.9 %~ 5.0%であった.

(1)~(3)の成績は, 肥料等試験法に記載された試験法が主要な成分としての石灰(CaO)の含有量を評価することができる性能を有しており, クライテリア・アプローチにおける試験法の性能規準の資料を作成する際に十分に参考になると考えられた.

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC): 肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所: 肥料分析法(1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 5) 肥料取締法施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改平成 18 年 3 月 23 日, 政令第 51 号 (2006)

- 6) 農林水産省告示:肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和 59 年 3 月 16 日, 農林水産省告示第 695 号, 最終改正平成 11 年 5 月 13 日, 農林水産省告示第 704 号 (1999)
- 7) 肥料取締法:昭和 25 年 5 月 1 日, 法律第 127 号, 最終改平成 23 年 8 月 30 日, 法律第 105 号(2011)
- 8) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
<http://www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf>
- 9) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
<www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>
- 10) 農林水産省告示:肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林省告示第 1985 号 (2012)
- 11) ISO 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons” (JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」)
- 12) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 井上智江, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2009 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **3**, 73~94 (2010)
- 13) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2010 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **4**, 85~106 (2011)
- 14) 恵智正宏, 渡部絵里菜, 小西範英, 阿部 進, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2011 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **5**, 68~88 (2012)
- 15) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials – General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質 – 認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 16) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人:2010 年度 肥料認証標準物質の開発, 肥料研究報告, **4**, 107~120 (2011)

Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Calcium Content in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Souichi IGARASHI¹ and Yasuharu KIMURA²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

We verified performance characteristics of testing methods for total calcium (T-CaO), hydrochloric acid-soluble calcium (S-CaO) and water-soluble calcium (W-CaO) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of calcium was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 1 % ~ 20 % calcium (as CaO) which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 97.9 % ~ 101.8 %. On the basis of 10 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.05 % ~ 0.07 % and 0.04%, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, median, normalized interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of T-CaO and S-CaO obtained by collaborative studies were 5.82 % ~ 41.64 %, 0.29 % ~ 0.90 %, and 1.9 % ~ 5.0 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of calcium.

Key words criteria approach, calcium, atomic absorption spectrometry, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, 6, 183~192, 2013)

18 苦土試験法の性能調査

—フレイム原子吸光法—

五十嵐総一¹, 木村康晴¹

キーワード クライテリア・アプローチ, 苦土, フレイム原子吸光法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準(criteria)を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ(Criteria Approach)と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法(1992年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 苦土(MgO)として規定^{5, 6)}されている可溶性苦土(S-MgO), 不溶性苦土(C-MgO)及び水溶性苦土(W-MgO)のフレイム原子吸光法の精確さ等の性能を調査したので報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料原料の中には苦土が含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表 1 のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 粒状の試薬は乳鉢を用いて粉碎した. 流通している肥料の配合割合を参考に表 2 のとおり試薬を混合し, 苦土(MgO)として質量分率 0.2 %~15 %含有する試料を調製した. また, 試薬を水に溶かして苦土(MgO)として質量分率 0.02 %含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 原子吸光分析装置: 日本ジャーレル・アッシュ SOLAAR S4
- (2) ホットプレート: 柴田科学 NP-6
- (3) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: (別注品)
- (4) 上下転倒式回転振り混ぜ機: 増田理化工業 MK-41

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター (現) 肥飼料安全検査部

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

表1 試料の調製に使用した試薬

| 使用する試薬 | | 対応する原材料名 | |
|----------------|---------------|--------------|-----|
| 名称 | 規格 | 名称又は種類名(材料) | 慣用名 |
| 酸化マグネシウム | 和光一級 | 酸化マグネシウム | |
| 水酸化マグネシウム | 鹿一級 | 水酸化マグネシウム | |
| 硫酸マグネシウム七水和物 | JIS K 8995 特級 | 硫酸マグネシウム七水和物 | |
| 硫酸アンモニウム | JIS K8960 特級 | 硫酸アンモニア | 硫安 |
| 尿素 | JIS K8731 特級 | 尿素 | 尿素 |
| りん酸水素カルシウム二水和物 | 特級 | 過りん酸石灰 | 過石 |
| 硫酸カリウム | JIS K8962 特級 | 硫酸加里 | 硫加 |
| 硫酸カルシウム二水和物 | JIS K8963 特級 | 組成均一促進材 | 石膏 |
| グルコース | JIS K8824 特級 | グルコース | |

表2 試験に用いた試料の配合割合

(質量分率%)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | | | | | 定量下限確認用試料 | | | |
|----------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|-------|-------|-------|
| | S-MgO | S-MgO | C-MgO | C-MgO | W-MgO | W-MgO | S-MgO | C-MgO | W-MgO | W-MgO |
| | -15 | -1 | -5 | -1 | -5 | -1 | -0.2 | -0.2 | -0.2 | -0.02 |
| 酸化マグネシウム | 14.7 | 0.98 | | | | | 0.2 | | | |
| 水酸化マグネシウム | | | 6.87 | 1.37 | | | | 0.27 | | |
| 硫酸マグネシウム七水和物 | | | | | 30.43 | 6.09 | | | 1.22 | 0.122 |
| 硫酸アンモニウム | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 0.5 |
| 尿素 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 1 |
| りん酸水素カルシウム二水和物 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 1 |
| 硫酸カリウム | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 1 |
| 硫酸カルシウム二水和物 | 40 | 40 | 40 | 40 | 24.57 | 40 | 40 | 40 | 40 | |
| グルコース | 10.3 | 24.02 | 18.13 | 23.63 | 5 | 18.91 | 24.8 | 24.73 | 23.78 | |
| 水 | | | | | | | | | | 96.38 |
| MgO含有量 | 15 | 1 | 5 | 1 | 5 | 1 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.02 |

3) 試薬の調製

(1) 水: 水精製装置(ADVANTEC RDF240NA)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。

(2) マグネシウム標準液(Mg 1 mg/mL): マグネシウム標準液(Mg: 1,000 mg/L)(和光純薬工業;JCSS)を使用した。

(3) 検量線用マグネシウム標準液: マグネシウム標準液(Mg 1 mg/mL)を段階的にとり、最終希釈液に調製する容量の 1/10 容量の干渉抑制剤溶液をそれぞれ加え、水で希釈して検量線用マグネシウム標準液(Mg 10,20,30,40 µg/mL)を調製した。

(4) 検量線用空試験液: 干渉抑制剤溶液一定量をとる、水で 10 倍に希釈した。

(5) くえん酸溶液(20 mg/mL): JIS K 8283 に規定するくえん酸一水和物 20 g を水に溶かして 1,000 mL とした。

(6) 干渉抑制剤溶液: JIS K8132 に規定する塩化ストロンチウム六水和物 152.1 g をビーカー2,000 mL にはかりとり、少量の水を加え、塩酸 420 mL を徐々に加えて溶かし、更に水を加えて 1,000 mL とした。

(7) その他の試薬: 肥料等試験法³⁾に従った。

4) 試験成分及び試験方法

可溶性苦土(S-MgO), 可溶性苦土(C-MgO)及び水溶性苦土(W-MgO)の抽出及び測定は表3のとおり肥料等試験法³⁾の各試験方法を用いた. なお, 参考のため, 各試験法のフローシート(図1~3)を示した.

表3 試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 肥料等試験法の項目 | 試料溶液の抽出方法 |
|--------------|-------------------|----------------------------------|
| 可溶性苦土(S-MgO) | 4.6.1.a フレーム原子吸光法 | (4.1)塩酸(1+23)で煮沸抽出 |
| 可溶性苦土(C-MgO) | 4.6.2.a フレーム原子吸光法 | (4.1)くえん酸溶液(20mg/ml)回転振とう[約30°C] |
| 水溶性苦土(W-MgO) | 4.6.3.a フレーム原子吸光法 | (4.1)水で煮沸抽出 |

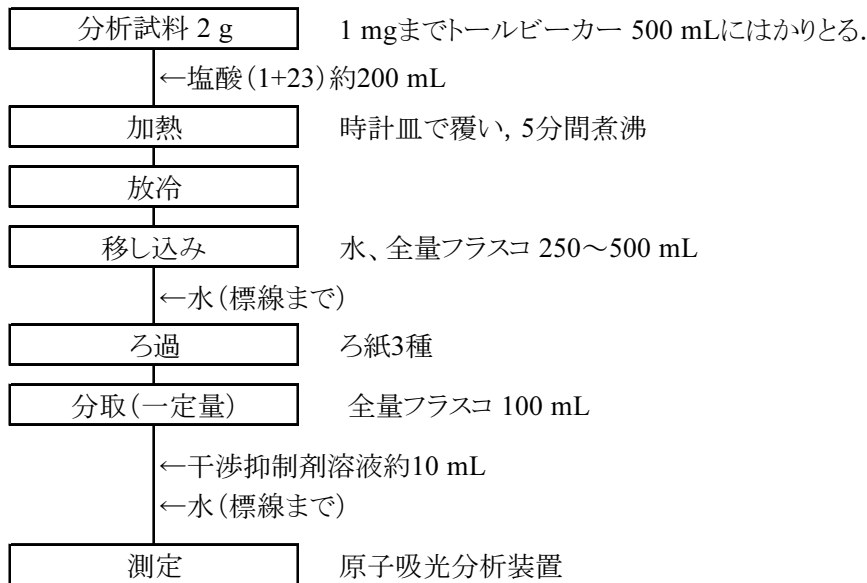


図1 肥料中の可溶性苦土試験法フローシート

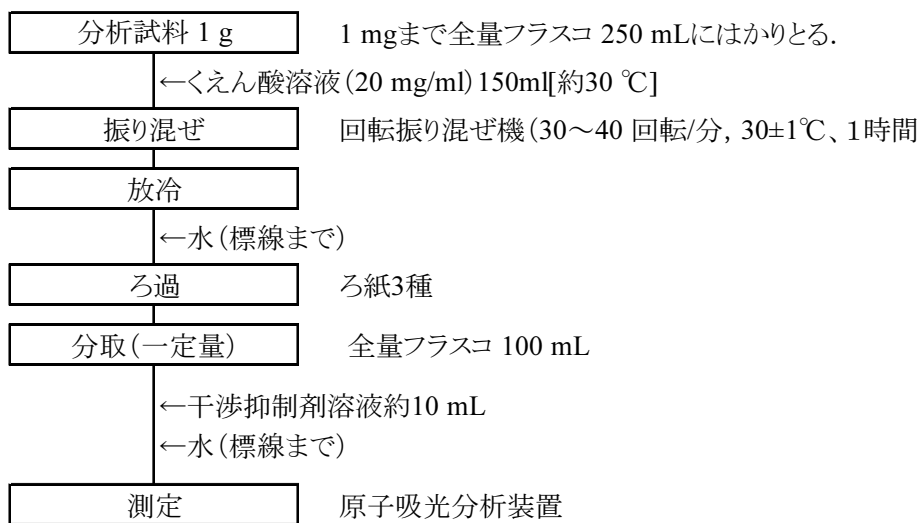


図2 肥料中の可溶性苦土試験法フローシート

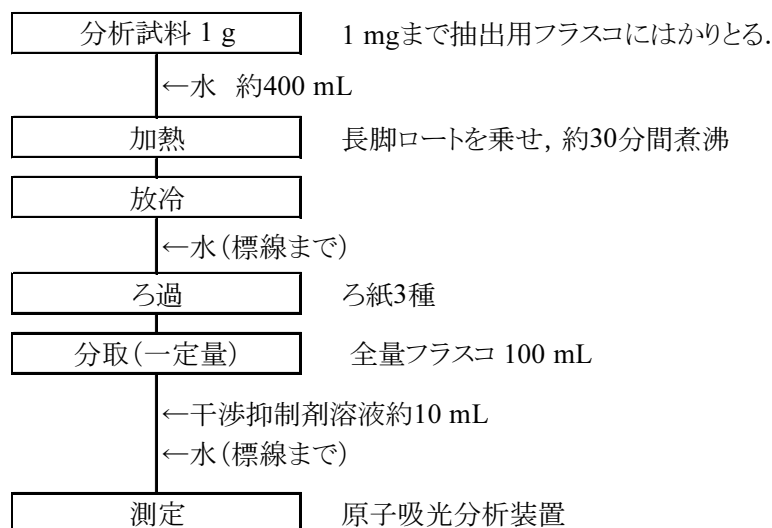


図3 肥料中の水溶性苦土試験法フローシート

3. 結果及び考察

1) 試料の調製に用いた酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム及び硫酸マグネシウム七水和物中の苦土含有量

肥料の調製に用いた酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム及び硫酸マグネシウム七水和物中の苦土の含有量を肥料等試験法により3点併行で測定した結果を表4に示した。平均値より算出した理論値に対する割合は各々、試薬の表示値を満たしており、その相対標準偏差は0.3%~0.4%と小さかった。試料の調製では理論値を用いて配合設計を行ったが、苦土(MgO)の含有量は算出した純度を用いることとした。

表4 試料の調製に用いた試薬中の苦土(MgO)の測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾ | 標準偏差 (%) ⁴⁾ | 理論値に対 | | 相対標準偏差 (%) |
|--------------|--|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| | | | | する割合 ³⁾ (%) | 表示純度 (%) ⁴⁾ | |
| 酸化マグネシウム | 98.00 | 98.83 | 0.30 | 100.8 | min 98.0 | 0.3 |
| 水酸化マグネシウム | 69.11 | 69.72 | 0.18 | 100.9 | min 99.5 | 0.3 |
| 硫酸マグネシウム七水和物 | 16.35 | 16.36 | 0.06 | 100.1 | min 95.0 | 0.4 |

1) 試薬中の苦土(MgO)理論値、酸化マグネシウムについては試薬添付の試験成績表の純度試験結果

2) 苦土(MgO)の3点併行試験の平均値

3) (平均値/理論値)×100

4) 質量分率

2) 真度評価結果

真度評価用試料(表1,2)を用いて3点併行で可溶性苦土(S-MgO)、く溶性苦土(C-MgO)及び水溶性苦土(W-MgO)の試験を実施した成績を表5に示した。

肥料取締法⁷⁾において、保証成分量(含有する主成分の最小量)を生産業者保証票又は輸入業者保証票(以下、「保証票」という)に記載することを普通肥料(汚泥肥料等を除く)の生産又は輸入した業者(以下、「生産業者等」という)に義務づけている。よって、苦土(MgO)の設計値と各試験法の測定値の差について算出した。

苦土(MgO)として質量分率 1 %~15 %含有する試料についてそれぞれの試験方法で測定したところ、設計値と測定値との差は試料(MgO 質量分率 5 %及び 1 %)で質量分率-0.06 %~0.02 %であり、苦土(MgO)含有量の多い試料(MgO 質量分率 15 %)では 0.26 %であった。また、設計値に対する回収率は 98.9 %~101.7 %であった。このことから、これらの試験法は、普通肥料(指定配合肥料を含む)の苦土(MgO)の保証成分量の評価を得るのに十分な正確さを有していることが確認された。

なお、AOAC⁸⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は濃度 100 %で 98 %~101 %、濃度 10 %で 95 %~102 %及び濃度 1 %で 92 %~105 %であり、参考のため比較したところ苦土(MgO)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中の苦土(MgO)の試験成績

| 試験成分 | 試料 | 設計値 | 測定値 | 設計値との差 | 差の割合 | 回収率 | 標準偏差 | 相対標準偏差 |
|-------|--------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------|
| | | A ¹⁾ (%) ²⁾ | B ³⁾ (%) ²⁾ | C ⁴⁾ (%) ²⁾ | D ⁵⁾ (%) | E ⁶⁾ (%) | F ⁷⁾ (%) ²⁾ | G ⁸⁾ (%) |
| S-MgO | MgO-15 | 15 | 15.26 | 0.26 | 1.7 | 101.7 | 0.30 | 2.0 |
| | MgO-1 | 1 | 1.00 | 0.00 | -0.5 | 99.5 | 0.00 | 0.5 |
| C-MgO | MgO-5 | 5 | 4.94 | -0.06 | -1.1 | 98.9 | 0.16 | 3.3 |
| | MgO-1 | 1 | 1.00 | 0.00 | 0.3 | 100.3 | 0.05 | 4.5 |
| W-MgO | MgO-5 | 5 | 5.02 | 0.02 | 0.4 | 100.4 | 0.06 | 1.2 |
| | MgO-1 | 1 | 1.01 | 0.01 | 0.9 | 100.9 | 0.08 | 7.9 |

- 1) 試料中の苦土(MgO)の含有量(設計値)
- 2) 質量分率
- 3) 3点併行試験の平均値
- 4) C=B-A
- 5) D=(C/A)×100
- 6) E=(B/A)×100
- 7) 3点併行試験の標準偏差
- 8) G=(F/B)×100

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料(表 1,2)を用いて 7 点併行で可溶性苦土(S-MgO)、く溶性苦土(C-MgO)及び水溶性苦土(W-MgO)の試験を実施した結果を表 6 に示した。なお、定量下限は(標準偏差)×10、また、検出下限は(標準偏差)×2×t(n-1,0.05)を用いて算出した⁹⁾。

普通肥料の公定規格¹⁰⁾において普通肥料(汚泥肥料等及び家庭園芸用複合肥料を除く)の苦土(MgO)の含有すべき主成分の最小量並びに肥料取締法施行規則¹¹⁾において指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く)の苦土(MgO)の保証できる最小量は 1.0 %と規定されている。このことから、これらの試験法は公定規格における普通肥料(汚泥肥料等及び家庭園芸複合肥料を除く)、指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く)の含有量の評価を得るのに十分な定量範囲を有していることが確認された。なお、液状試料(W-MgO 質量分率 0.02 %)は溶液濃度が極端に低かったため、定量下限及び検出下限の推定が困難だった。

表6 定量下限確認試験の成績 (質量分率%)

| 試験成分 | 試料 | 設計値 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ | 標準偏差 | 推定定量 下限値 ³⁾ | 推定検出 下限値 ⁴⁾ |
|-------|----------|-------------------|-------------------|-------|---------------------------|---------------------------|
| S-MgO | MgO-0.2 | 0.2 | 0.212 | 0.005 | 0.05 | 0.02 |
| C-MgO | MgO-0.2 | 0.2 | 0.203 | 0.006 | 0.06 | 0.02 |
| W-MgO | MgO-0.2 | 0.2 | 0.202 | 0.007 | 0.07 | 0.03 |
| W-MgO | MgO-0.02 | 0.02 | 0.0057 | 0.001 | - | - |

- 1) 試料中の苦土(MgO)の含有量(設計値)
- 2) 7点併行試験の平均値
- 3) 標準偏差×10
- 4) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、既報の外部精度管理試験¹²⁾のうち該当する試験法で実施された成績^{13~18)}及び認証標準物質の値付けのための共同試験¹⁹⁾の成績²⁰⁾を適用することとし、それらの成績を表7及び表8に示した。なお、外部精度管理試験では、ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差(NIQR)が算出されている。中央値及びNIQRは正規分布において平均値及び標準偏差に一致する。

可溶性苦土(S-MgO)、く溶性苦土(C-MgO)及び水溶性苦土(W-MgO)の中央値又は平均値が質量分率1.94%~6.24%の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率0.06%~0.21%、その相対標準偏差は1.5%~7.4%であった。また、試験成績のHorRat値は0.47~2.09であった。

なお、AOAC(OMA)⁸⁾における濃度レベルにおける室間再現精度の目安は濃度100%で2%、濃度10%で3%、濃度1%で4%及び濃度0.1%で6%であり、参考のため比較したところ室間再現標準偏差はこれらの目安を下回った。

表7 外部精度管理試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験年度 | 試験室数 | 中央値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | NIQR B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|-------|-----------|------|------|--|---|---|-----------------------------|----------------------------|
| S-MgO | 鉍さいけい酸質肥料 | 2009 | 58 | 4.48 | 0.10 | 2.2 | 3.2 | 0.70 |
| | 鉍さいけい酸質肥料 | 2010 | 60 | 5.47 | 0.08 | 1.5 | 3.1 | 0.47 |
| | 鉍さいけい酸質肥料 | 2011 | 55 | 6.24 | 0.12 | 1.9 | 3.0 | 0.63 |
| C-MgO | 鉍さいけい酸質肥料 | 2006 | 78 | 6.18 | 0.13 | 2.1 | 3.0 | 0.69 |
| | 鉍さいけい酸質肥料 | 2007 | 86 | 3.13 | 0.21 | 6.7 | 3.4 | 1.99 |
| | 鉍さいけい酸質肥料 | 2008 | 76 | 5.83 | 0.16 | 2.7 | 3.1 | 0.89 |
| | 鉍さいけい酸質肥料 | 2009 | 75 | 2.31 | 0.17 | 7.4 | 3.5 | 2.09 |
| | 鉍さいけい酸質肥料 | 2010 | 76 | 5.42 | 0.12 | 2.2 | 3.1 | 0.71 |
| | 鉍さいけい酸質肥料 | 2011 | 69 | 3.33 | 0.20 | 6.0 | 3.3 | 1.80 |
| | 有機入り化成肥料 | 2007 | 137 | 3.41 | 0.07 | 2.1 | 3.3 | 0.62 |
| | 普通化成肥料 | 2008 | 127 | 4.62 | 0.11 | 2.4 | 3.2 | 0.75 |
| | 普通化成肥料 | 2010 | 123 | 3.11 | 0.07 | 2.3 | 3.4 | 0.67 |
| | 高度化成肥料 | 2011 | 116 | 2.48 | 0.06 | 2.4 | 3.5 | 0.69 |
| W-MgO | 高度化成肥料 | 2011 | 110 | 1.94 | 0.08 | 4.1 | 3.6 | 1.14 |

- 1) 中央値
- 2) 質量分率
- 3) ロバスト標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

表8 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験年度 | 試験室数 | 平均値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | s_R B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|-------|--------|------|------|--|--|---|-----------------------------|----------------------------|
| C-MgO | 高度化成肥料 | 2010 | 11 | 3.28 | 0.11 | 3.3 | 3.35 | 0.99 |

- 1) 認証値
- 2) 質量分率
- 3) 室間再現標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

4. まとめ

可溶性苦土(S-MgO), 可溶性苦土(C-MgO)及び水溶性苦土(W-MgO)のフレーム原子吸光法の真度, 定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ, 次の結果を得た.

(1) 苦土(MgO)として1%~15%含有する試料についてそれぞれの試験方法で測定したところ, 設計値と測定値との差は試料(MgO質量分率5%及び1%)で質量分率-0.06%~0.02%であり, 苦土(MgO)含有量の多い試料(MgO質量分率15%)では質量分率0.26%であった. また, 設計値に対する回収率は98.9~101.7%であった.

(2) 粉状試料(MgO 質量分率 0.2 %)を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ, 質量分率 0.05 % ~0.07 %及び 0.02 %~0.03 %であった. また, 液状試料(W-MgO 質量分率 0.02 %)は溶液濃度が極端に低かったため, 定量下限及び検出下限の推定が困難だった.

(3) 外部精度管理試験及び肥料認証標準物質の値付けのための共同試験より室間再現精度を調査したところ, 可溶性苦土(S-MgO), 不溶性苦土(C-MgO)及び水溶性苦土(W-MgO)は, 中央値又は平均値が質量分率 1.94 %~6.24 %の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率 0.06 %~0.21 %, その相対標準偏差は 1.5 % ~7.4 %であった.

(1)~(3)の成績は, 肥料等試験法に記載された試験法が主要な成分としての苦土(MgO)の含有量を評価することができる性能を有しており, クライテリア・アプローチにおける試験法の性能規準の資料を作成する際に十分に参考になると考えられた.

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992年版), 日本肥糧検定協会, 東京(1992)
- 5) 肥料取締法施行令, 昭和 25 年 6 月 20 日, 政令第 198 号, 最終改平成 18 年 3 月 23 日, 政令第 51 号 (2006)
- 6) 農林水産省告示:肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件, 昭和 59 年 3 月 16 日, 農林水産省告示第 695 号, 最終改正平成 11 年 5 月 13 日, 農林水産省告示第 704 号 (1999)
- 7) 肥料取締法:昭和 25 年 5 月 1 日, 法律第 127 号, 最終改平成 23 年 8 月 30 日, 法律第 105 号(2011)
- 8) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
<http://www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf>
- 9) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
<www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>
- 10) 農林水産省告示:肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件, 昭和 61 年 2 月 22 日, 農林水産省告示第 284 号, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林省告示第 1985 号 (2012)
- 11) 農林水産省令:肥料取締法施行規則, 昭和 25 年 6 月 20 日, 最終改正平成 24 年 8 月 8 日, 農林水産省令第 44 号 (2012)
- 12) ISO 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons” (JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」)
- 13) 杉村 靖, 加藤公栄, 齊木雅一, 阿部文浩, 伊藤 潤, 内山 丈, 白井裕治, 引地典雄, 杉原 進:2006 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **1**, 138~151 (2008)

- 14) 高橋雄一, 加藤公栄, 井塚進次郎, 清水 昭, 松崎 学, 井上智江, 内山 丈, 白井裕治, 杉原 進:2007 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **1**, 152~167 (2008)
- 15) 高橋雄一, 加藤公栄, 井塚進次郎, 清水 昭, 井上智江, 内山 丈, 白井裕治, 上沢正志:2008 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **2**, 97~115 (2009)
- 16) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 井上智江, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2009 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **3**, 73~94 (2010)
- 17) 八木寿治, 白澤優子, 相澤真理子, 清水 昭, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2010 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **4**, 85~106 (2011)
- 18) 恵智正宏, 渡部絵里菜, 小西範英, 阿部 進, 福中理絵, 八木啓二, 白井裕治, 上沢正志:2011 年度 外部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **5**, 68~88 (2012)
- 19) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 20) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人:2010 年度 肥料認証標準物質の開発, 肥料研究報告, **4**, 107~120 (2011)

Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Magnesium Content in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Souichi IGARASHI¹ and Yasuharu KIMURA²

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center
(Now) Fertilizer and Feed Inspection Department

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center

We verified performance characteristics of testing methods for hydrochloric acid-soluble magnesium (S-MgO), citric acid-soluble magnesium (C-MgO) and water-soluble magnesium (W-MgO) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of magnesium was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 1% ~ 15% magnesium (as MgO) which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 98.9% ~ 101.7%. On the basis of 10 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.05% ~ 0.07%. Reported in Research Report of Fertilizer, median, normalized interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of S-MgO, C-MgO and W-MgO obtained by proficiency testings were 1.94% ~ 6.24%, 0.06% ~ 0.21%, and 1.5% ~ 7.4%, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of magnesium.

Key words criteria approach, magnesium, atomic absorption spectrometry, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, 6, 193~202, 2013)

19 マンガン試験法の性能調査

—フレイム原子吸光法—

八木啓二¹, 豊留夏紀¹, 鈴木時也¹, 添田英雄¹

キーワード クライテリア・アプローチ, マンガン, フレイム原子吸光法, 肥料等試験法

1. はじめに

国際的な適合性評価の動きが進む中, 我が国においても ISO/IEC 17025:2005 (JIS Q 17025:2005)¹⁾の要求事項を参考にした試験成績の信頼性確保の考え方が重要視されている. ISO/IEC 17025 では, 国際・国家規格等又は妥当性が確認された方法を選定することを要求している. 一方, 品質の評価に用いる分析法を規格, 公定法等で指定するのではなく, 一定の規準 (criteria) を満たす分析法ならば, 適用可能としている. この考え方はクライテリア・アプローチ (Criteria Approach) と呼ばれており, 化学物質を客観的に測定する分析法の評価に適用できることがコーデックス委員会において合意されている. 食品を対象としているコーデックス分析法の性能規準に関する数値設定のためのガイドライン²⁾には適用範囲, 真度, 精度, 定量下限等が設定されている.

しかしながら, 肥料の試験法に要求される性能規準は, 食品とは異なるため, 新たに設定する必要がある. 近年, 新たに開発された方法についてはこれらの性能を調査して肥料等試験法³⁾に順次収載している. ただし, 肥料分析法 (1992 年版)⁴⁾の記載様式を書き替えた試験法には定量下限等が記載されていないため, それらの性能を調査する必要がある. このことから, 筆者らは肥料等試験法に収載されている試験法のうち, 主要な成分のマンガン (MnO) として規定^{5, 6)}されている可溶性マンガン (S-MnO), 不溶性マンガン (C-MnO) 及び水溶性マンガン (W-MnO) のフレイム原子吸光法の精確さ等の性能を調査したので報告する.

2. 材料及び方法

1) 試料の調製

流通している肥料原料の中にはマンガンが含まれているおそれがあることから, 試料の調製にあたっては表 1 のとおり出来る限り各肥料原料の主成分に対応する JIS 規格に規定されている試薬特級を用いた. なお, 粒状の試薬は乳鉢を用いて粉碎し, 炭酸マンガン n 水和物は, 農林水産省農蚕園芸局長通知⁷⁾から肥料等試験法³⁾に従い 212 μm のふるいを通過したものを用いた. 流通している肥料の配合割合を参考に表 2-1 及び表 2-2 のとおり試薬を混合し, マンガン (MnO) として質量分率 0.001 % ~ 6 % 含有する試料を調製した.

2) 装置及び器具

- (1) 原子吸光分析装置: 日本ジャーレル・アッシュ SOLAAR M5
- (2) ホットプレート: 柴田科学 NP-6
- (3) 上下転倒式恒温回転振り混ぜ機: ADVANTEC DGX-226
- (4) 上下転倒式回転振り混ぜ機: いすゞ製作所

¹⁾ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

表1 試料の調製に使用する試薬

| 使用する試薬 | | 対応する原材料名 | |
|--------------------------|--------------|-------------|---------|
| 名称 | 規格 | 名称又は種類名(材料) | 慣用名 |
| 硫酸アンモニウム | JIS K8960 特級 | 硫酸アンモニア | 硫安 |
| 尿素 | JIS K8731 特級 | 尿素 | 尿素 |
| りん酸水素二アンモニウム | JIS K9016 特級 | りん酸アンモニア | DAP |
| りん酸一水素カルシウム二水和物 | 特級 | 過りん酸石灰 | 過石 |
| りん酸水素二カリウム | JIS K9017 特級 | | |
| 塩化カリウム | JIS K8121 特級 | 塩化加里 | 塩加 |
| 炭酸マンガンの水和物 | 特級 | 炭酸マンガ肥料 | |
| 硫酸マンガンの水和物 | 特級 | 硫酸マンガ肥料 | |
| グルコース | JIS K8824 特級 | | |
| エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物 | JIS K8107 特級 | 沈殿防止材 | EDTA-Na |

表2-1 試験に用いた可溶性マンガ及びく溶性マンガ試料の配合割合 (質量分率%)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | 定量下限確認用試料 |
|-----------------|---------|---------|-----------|
| | MnO-5 | MnO-0.1 | MnO-0.02 |
| 硫酸アンモニウム | 14 | 18 | 18 |
| 尿素 | 20 | 23 | 23 |
| りん酸水素二アンモニウム | 16 | | |
| りん酸一水素カルシウム二水和物 | 17.27 | 35.826 | 35.965 |
| 塩化カリウム | 24 | 23 | 23 |
| 炭酸マンガンの水和物 | 8.73 | 0.174 | 0.035 |
| MnO含有量 | 5 | 0.1 | 0.02 |

表2-2 試験に用いた水溶性マンガ試料の配合割合 (質量分率%)

| 使用する試薬 | 真度評価用試料 | | 定量下限確認用試料 | |
|--------------------------|---------|---------|-----------|-----------|
| | MnO-6 | MnO-0.1 | MnO-0.02 | MnO-0.001 |
| 硫酸アンモニウム | 10 | 10 | 10 | 5 |
| 尿素 | | 10 | 10 | |
| りん酸水素二カリウム | 10 | 10 | 10 | 3 |
| 塩化カリウム | | | 10 | |
| 硫酸マンガンの水和物 | 14.73 | 0.245 | 0.049 | 0.0025 |
| グルコース | 55.27 | 59.755 | 49.951 | |
| エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物 | 10 | 10 | 10 | 1.9975 |
| 水 | | | | 90 |
| MnO含有量 | 6 | 0.1 | 0.02 | 0.001 |

3) 試薬の調製

(1) 水: 水精製装置(日本ミリポア Elix Advantage 5)を用いて精製した JIS K 0557 に規定する A3 相当の水を使用した。

- (2) 塩酸： JIS K 8180 に規定する同等の品質の試薬(和光純薬工業;有害金属測定用)を使用した。
- (3) くえん酸溶液(20 mg/mL)： JIS K 8283 に規定するくえん酸一水和物 20 g を水に溶かして 1,000 mL とした。
- (4) 干渉抑制剤溶液： JIS K 8132 に規定する塩化ストロンチウム六水和物 60.9 g~152.1 g をビーカー 2,000 mL にはかりとり、少量の水を加えた後、塩酸 420 mL を徐々に加えて溶かし、更に水を加えて 1,000 mL とする。
- (5) マンガン標準液(Mn 1 mg/mL)： マンガン標準液(Mn: 1,000 mg/L) (和光純薬工業;JCSS)を使用した。
- (6) マンガン標準液(Mn 0.1mg/mL)： マンガン標準液(Mn 1 mg/mL) 10 mLを全量フラスコ 100 mLにとり、標線まで水を加える。
- (7) 検量線用マンガン標準液(Mn 1 µg/mL~10 µg/mL)： マンガン標準液(Mn 0.1 mg/mL)の 2.5 mL~25 mLを全量フラスコ 250 mL に段階的にとり、干渉抑制剤溶液約 25 mLを加え、標線まで水を加える。
- (8) 検量線用空試験液： 干渉抑制剤溶液一定量をとる、水で 10 倍に希釈した。
- (9) その他の試薬： 肥料等試験法³⁾に従った。

4) 試験成分及び試験方法

可溶性マンガン(S-MnO)、く溶性マンガン(C-MnO)及び水溶性マンガン(W-MnO)の抽出及び測定は表 3 のとおり肥料等試験法³⁾の各試験方法を用いた。なお、参考のため、各試験法のフローシート(図 1~3)を示した。

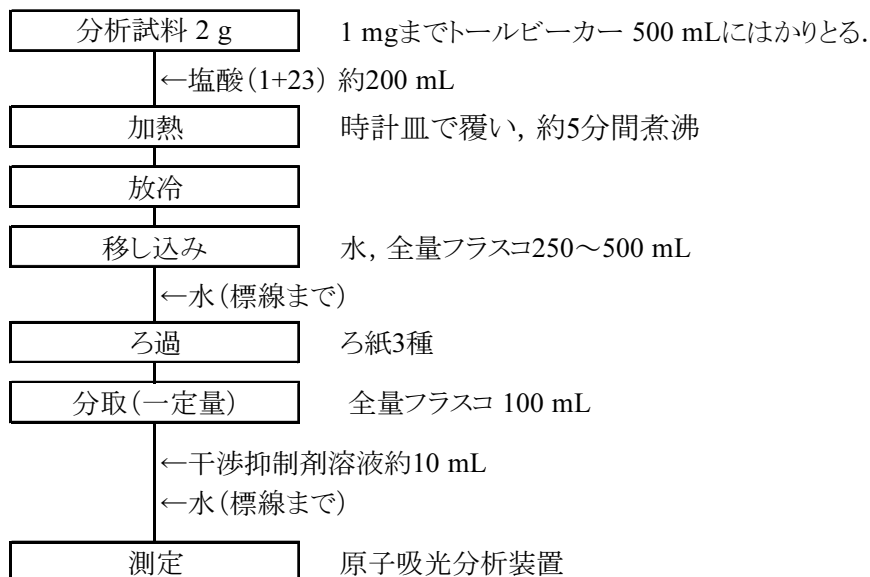


図1 肥料中の可溶性マンガン試験法フローシート

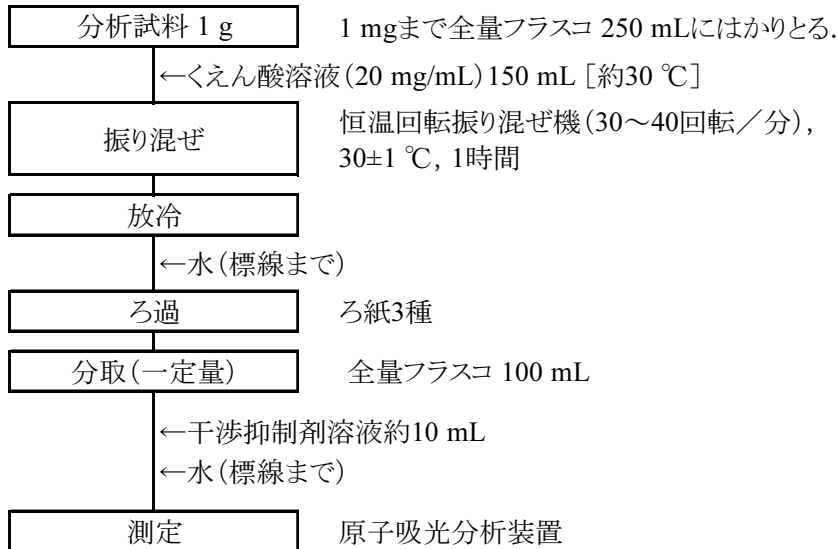


図2 肥料中のく溶性マンガン試験法フローシート

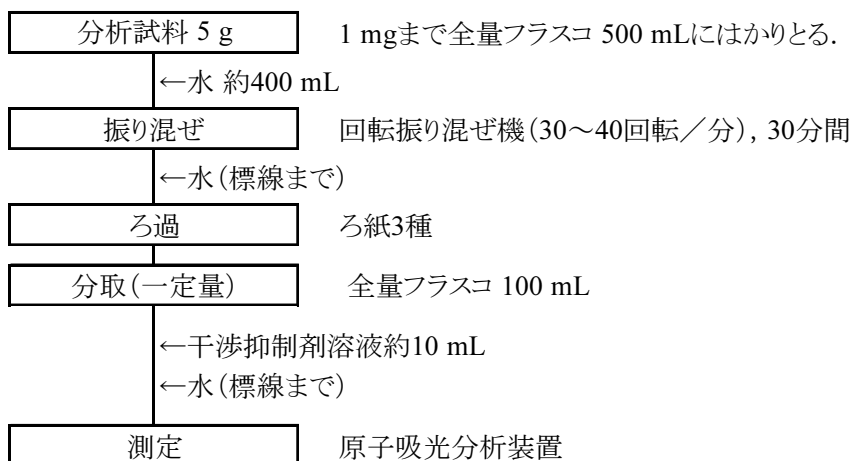


図3 肥料中の水溶性マンガン試験法フローシート

表3 試験成分及び試験方法

| 試験成分 | 肥料等試験法の項目 | 試料溶液の調製方法 |
|----------------|-------------------|------------------------------------|
| 可溶性マンガン(S-MnO) | 4.7.1.a フレーム原子吸光法 | (4.1) 塩酸(1+23)で煮沸抽出 |
| く溶性マンガン(C-MnO) | 4.7.2.a フレーム原子吸光法 | (4.1) くえん酸溶液(20 mg/mL)回転振とう(30 °C) |
| 水溶性マンガン(W-MnO) | 4.7.3.a フレーム原子吸光法 | (4.1) 水回転振とう |

3. 結果及び考察

1) 試料の調製に用いた炭酸マンガン n 水和物及び硫酸マンガン一水和物中のマンガンの含有量

試料の調製に用いた炭酸マンガン n 水和物及び硫酸マンガン一水和物中のマンガンの含有量を肥料等試験法(可溶性マンガン, く溶性マンガン及び水溶性マンガン)により3点併行で測定した結果を表4-1及び表4-2に示した. 平均値より算出した理論値に対する割合は質量分率 99.5%, 100.7%及び101.9%であり, その相対

標準偏差は 0.02 %～0.04 % と小さかった。このことから、試料の調製では理論値を用いて配合設計を行った。

表4-1 試料の調製に用いた炭酸マンガンn水和物中の可溶性マンガ
及び可溶性マンガンの測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾ | 標準偏差 (%) ⁴⁾ | 理論値に対 する割合 ³⁾ (%) | 相対標 準偏差 (%) |
|-------------------|--|--|---------------------------|------------------------------------|-------------------|
| 炭酸マンガンn水和物(S-MnO) | 57.23 | 56.94 | 0.01 | 99.5 | 0.02 |
| 炭酸マンガンn水和物(C-MnO) | 57.23 | 57.63 | 0.02 | 100.7 | 0.04 |

1) 炭酸マンガンn水和物中のマンガ(MnO)理論値(nは、MSDS記載の0.5を用いた)

2) 可溶性及び可溶性マンガ(MnO)の3点併行試験の平均値

3) (平均値/理論値)×100

4) 質量分率

表4-2 試料の調製に用いた硫酸マンガン一水和物中の水溶性マンガンの測定値

| 試料 | 理論値 ¹⁾ (%) ⁴⁾ | 平均値 ²⁾ (%) ⁴⁾ | 標準偏差 (%) ⁴⁾ | 理論値に対 する割合 ³⁾ (%) | 相対標 準偏差 (%) |
|-------------------|--|--|---------------------------|------------------------------------|-------------------|
| 硫酸マンガン一水和物(W-MnO) | 40.71 | 41.49 | 0.02 | 101.9 | 0.04 |

1) 硫酸マンガン一水和物中のマンガ(MnO)理論値

2) 水溶性マンガ(MnO)の3点併行試験の平均値

3) (平均値/理論値)×100

4) 質量分率

2) 真度評価結果

真度評価用試料(表 2-1 及び表 2-2)を用いて 3 点併行で可溶性マンガ(S-MnO), 可溶性マンガ(C-MnO) 及び水溶性マンガ(W-MnO)の試験を実施した成績を表 5 に示した。

肥料取締法⁸⁾において、保証成分量(含有する主成分の最小量)を生産業者保証票又は輸入業者保証票(以下、「保証票」という)に記載することを普通肥料(污泥肥料等を除く)の生産又は輸入した業者(以下、「生産業者等」という)に義務づけている。よって、マンガ(MnO)の設計値と各試験法の測定値の差について算出した。マンガ(MnO)として質量分率 0.1 %～6 %含有する試料についてそれぞれの試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率 0 %～0.09 %であり、設計値に対する回収率は、100.5 %～101.9 %であった。このことから、これらの試験法は、普通肥料(指定配合肥料を含む)のマンガ(MnO)の保証成分量の評価を得るのに十分な正確さを有していることが確認された。

なお、AOAC⁹⁾における濃度レベルにおける回収率の許容範囲は濃度 10 %で 95 %～102 %, 0.1 %で 90 %～108 %及び 0.01 %で 85 %～110 %であり、参考のため比較したところマンガ(MnO)のいずれの回収率もこれらの許容範囲内であった。

表5 試料中のマンガン(MnO)の試験成績

| 試験成分 | 試料 | 設計値 | 測定値 | 設計値との差 | 差の割合 | 回収率 | 標準偏差 | 相対標準偏差 |
|-------|---------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------|
| | | A ¹⁾ (%) ²⁾ | B ³⁾ (%) ²⁾ | C ⁴⁾ (%) ²⁾ | D ⁵⁾ (%) | E ⁶⁾ (%) | F ⁷⁾ (%) ²⁾ | G ⁸⁾ (%) |
| S-MnO | MnO-5 | 5 | 5.03 | 0.03 | 0.5 | 100.5 | 0.05 | 1.0 |
| | MnO-0.1 | 0.1 | 0.10 | 0.00 | 1.3 | 101.3 | 0.00 | 0.1 |
| C-MnO | MnO-5 | 5 | 5.09 | 0.09 | 1.9 | 101.9 | 0.01 | 0.1 |
| | MnO-0.1 | 0.1 | 0.10 | 0.00 | 0.5 | 100.5 | 0.00 | 1.2 |
| W-MnO | MnO-6 | 6 | 6.07 | 0.07 | 1.2 | 101.2 | 0.12 | 2.0 |
| | MnO-0.1 | 0.1 | 0.10 | 0.00 | 1.1 | 101.1 | 0.00 | 2.8 |

1) 試料中のマンガン(MnO)の含有量(設計値)

2) 質量分率

3) 3点併行試験の平均値

4) $C=B-A$

5) $D=(C/A) \times 100$

6) $E=(B/A) \times 100$

7) 3点併行試験の標準偏差

8) $G=(F/B) \times 100$

3) 検出下限及び定量下限

定量下限確認用試料(表 2-1 及び表 2-2)を用いて 7 点併行で可溶性マンガン(S-MnO), 可溶性マンガン(C-MnO)及び水溶性マンガン(W-MnO)試験を実施した結果を表 6 に示した. なお, 定量下限は「(標準偏差)×10」式, また, 検出下限は「(標準偏差)×2×t(n-1,0.05)」式を用いて算出した¹⁰⁾.

普通肥料の公定規格¹¹⁾において普通肥料(配合肥料, 液状複合肥料, 家庭園芸用複合肥料を除く)のマンガン(MnO)の含有すべき主成分の最小量並びに肥料取締法施行規則¹²⁾において指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く)のマンガン(MnO)の保証できる最小量は 0.1 %又はそれ以上の含有量と規定されている. このことから, この試験法は公定規格における普通肥料(配合肥料, 液状複合肥料, 家庭園芸用複合肥料を除く), 指定配合肥料(家庭園芸用肥料を除く)の含有量の評価を得るのに十分な定量範囲を有していることが確認された.

表6 定量下限確認試験の成績

(質量分率%)

| 試験成分 | 試料 | 設計値 ¹⁾ | 平均値 ²⁾ | 標準偏差 | 推定定量 下限値 ³⁾ | 推定検出 下限値 ⁴⁾ |
|-------|-----------|-------------------|-------------------|--------|---------------------------|---------------------------|
| S-MnO | MnO-0.02 | 0.02 | 0.0200 | 0.0006 | 0.006 | 0.002 |
| C-MnO | MnO-0.02 | 0.02 | 0.0200 | 0.0006 | 0.006 | 0.002 |
| W-MnO | MnO-0.02 | 0.02 | 0.0199 | 0.0004 | 0.004 | 0.001 |
| W-MnO | MnO-0.001 | 0.001 | 定量できず | | | |

1) 試料中のマンガン(MnO)の含有量(設計値)

2) 7点併行試験の平均値

3) 標準偏差×10

4) 標準偏差×2×t(n-1,0.05)

4) 室間再現精度

クライテリア・アプローチにおける性能規準では室間再現精度が要求されるが、試験法の妥当性確認のための共同試験の実施には大きな労力がかかる。このことから、既報の外部精度管理試験¹³⁾のうち該当する試験法で実施された成績¹⁴⁾及び認証標準物質の値付けのための共同試験¹⁵⁾の成績¹⁶⁾を適用することとし、それらの成績を表7及び表8に示した。なお、外部精度管理試験では、ロバスト法を用いて報告値の中央値及びロバスト標準偏差(NIQR)が算出されている。中央値及び NIQR は正規分布において平均値及び標準偏差に一致する。

く溶性マンガン(C-MnO)の中央値又は平均値が質量分率 0.403 %~0.547 %の範囲でその標準化された四分位範囲又は室間再現標準偏差は質量分率 0.010 %~0.017 %、その相対標準偏差は 2.4 %~3.1 %であった。また、く溶性マンガン(C-MnO)の試験成績の HorRat 値は 0.53~0.71 であった。

なお、AOAC(OMA)⁹⁾における濃度レベルにおける室間再現精度の目安は濃度 100 %で 2 %、濃度 10 %で 3 %、濃度 1 %で 4 %及び濃度 0.1 %で 6 %であり、参考のため比較したところく溶性マンガン(C-MgO)の室間再現標準偏差はこれらの目安を下回った。

表7 外部精度管理試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験 年度 | 試験 室数 | 中央値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | NIQR B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|-------|--------|----------|----------|--|---|---|-----------------------------|----------------------------|
| C-MnO | 普通化成肥料 | 2009 | 110 | 0.547 | 0.017 | 3.1 | 4.4 | 0.71 |

- 1) 中央値
- 2) 質量分率
- 3) ロバスト標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

表8 肥料認証標準物質の値付けのための共同試験成績

| 試験成分 | 試料の種類 | 試験 年度 | 試験 室数 | 平均値 A ¹⁾ (%) ²⁾ | s_R B ³⁾ (%) ²⁾ | RSD _R C ⁴⁾ (%) | PRSD D ⁵⁾ (%) | HorRat値 E ⁶⁾ |
|-------|--------|----------|----------|--|--|---|-----------------------------|----------------------------|
| C-MnO | 高度化成肥料 | 2010 | 9 | 0.403 | 0.010 | 2.4 | 4.6 | 0.53 |

- 1) 認証値
- 2) 質量分率
- 3) 室間再現標準偏差
- 4) 室間再現相対標準偏差 $C = (B/A) \times 100$
- 5) Horwitz修正式から算出された室間再現標準偏差
- 6) HorRat値 $E = C/D$

4. まとめ

可溶性マンガン(S-MnO)、く溶性マンガン(C-MnO)及び水溶性マンガン(W-MnO)のフレーム原子吸光法の真度、定量・検出下限及び室間再現精度を調査したところ、次の結果を得た。

(1) マンガン(MnO)として質量分率 0.1 %~6 %含有する試料についてそれぞれの試験法で測定したところ、設計値と測定値との差は質量分率 0 %~0.09 %であり、設計値に対する回収率は、100.5 %~101.9 %であった。

(2) マンガン含有量(MnO)として質量分率 0.02 %に調製した試料を用いて定量下限及び検出下限を確認したところ、質量分率 0.004 %~0.006 %及び 0.001 %~0.002 %程度と推定された。

(3) 外部精度管理試験及び肥料認証標準物質の値付けのための共同試験より室間再現精度を調査したところ、く溶性マンガン(C-MnO)は、中央値又は平均値が質量分率 0.403 %~0.547 %の範囲でその室間再現標準偏差は質量分率 0.010 %~0.017 %、その相対標準偏差は 2.4 %~3.1 %であった。

(1)~(3)の成績は、肥料等試験法³⁾に記載された試験法が主要な成分としてのマンガン(MnO)の含有量を評価することができる性能を有しているとしており、クライテリア・アプローチのガイドラインのマンガン(MnO)試験法の性能規準を作成する際に、これらの試験成績は十分に参考になると考えられた。

文 献

- 1) ISO/IEC 17025 (2005): “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (JIS Q 17025 :2006, 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」)
- 2) Codex Alimentarius Commission: “PROCEDURAL MANUAL, Twentieth edition, (2011)
<ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/ProcManuals/Manual_20e.pdf>
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 農林水産省農業環境技術研究所:肥料分析法(1992年版),日本肥糧検定協会,東京(1992)
- 5) 肥料取締法施行令,昭和25年6月20日,政令第198号,最終改正平成18年3月23日,政令第51号(2006)
- 6) 農林水産省告示:肥料取締法施行令第一条の二の規定に基づき農林水産大臣の指定する有効石灰等を指定する件,昭和59年3月16日,農林水産省告示第695号,最終改正平成11年5月13日,農林水産省告示第704号(1999)
- 7) 農林水産省農蚕園芸局長通知:肥料取締法施行規則及び肥料取締法に基づく告示の一部改正に伴う留意事項等について,(別紙),可溶性マンガンの定量法,平成2年12月5日,2農蚕第7217号(1989)
- 8) 肥料取締法:昭和25年5月1日,法律第127号,最終改正平成23年8月30日,法律第105号(2011)
- 9) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, AOAC INTERNATIONAL (2002)
- 10) Codex: “Guideline on Analytical Terminology”, CAC/GL 72-2009 (2009)
<www.codexalimentarius.net/download/standards/11357/cxg_072e.pdf>
- 11) 農林水産省告示:肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件,昭和61年2月22日,農林水産省告示第284号,最終改正平成24年8月8日,農林省告示第1985号(2012)
- 12) 農林水産省令:肥料取締法施行規則,昭和25年6月20日,最終改正平成24年8月8日,農林水産省令第44号(2012)
- 13) ISO 13528 (2005): “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons” (JIS Z 8405: 2008, 「試験所間比較による技能試験のための統計的方法」)
- 14) 八木寿治,白澤優子,相澤真理子,清水 昭,井上智江,八木啓二,白井裕治,上沢正志:2009年度外

- 部精度管理のための全国共通試料を用いた肥料の共同試験成績の解析, 肥料研究報告, **3**, 73~94 (2010)
- 15) ISO Guide 35 (2006): “Reference materials—General and statistical principles for certification” (JIS Q 0035 : 2008, 「標準物質—認証のための一般的及び統計学的な原則」)
- 16) 高橋佐貴子, 廣井利明, 八木寿治, 井塚進次郎, 山西正将, 秋元里乃, 白井裕治, 柴田政人: 2010 年度肥料認証標準物質の開発, 肥料研究報告, **4**, 107~120 (2011)

Verification of Performance Characteristics of Testing Methods for Manganese Content in Fertilizer by Atomic Absorption Spectrometry

Keiji YAGI¹, Natuki TOYODOME¹, Tokiya SUZUKI¹ and Hideo SOETA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center

We verified performance characteristics of testing methods for acid soluble manganese (S-MnO), citric acid-soluble manganese (C-MnO) and water-soluble manganese (W-MnO) by atomic absorption spectrometry described in Testing Methods for Fertilizers. The accuracy of testing methods for the several form of manganese was assured from 3 replicate determinations of 2 fertilizer samples containing 0.1 % ~ 6 % manganese (as MnO) which were prepared each test. As a result, the mean recoveries ranged from 100.5 % ~ 101.9 %. On the basis of 10 replicate measurements of each testing method of a solid sample and a liquid sample, the limit of quantitative value (LOQ) was estimated at 0.004 % ~ 0.006 % and 0.001 % ~ 0.002 %, respectively. Reported in Research Report of Fertilizer, medians, normalized interquartile ranges (NIQR) and relative standard deviations (RSD_R) for reproducibility of C-MnO obtained by proficiency testings were 0.403 % ~ 0.547 %, 0.010 % ~ 0.017 % and 2.4 % ~ 3.1 %, respectively. These results indicated that these methods performance characteristics were available in establishing criteria for a determination method of manganese.

Key words criteria approach, manganese, atomic absorption spectrometry, Testing Methods for Fertilizers

(Research Report of Fertilizer, 6, 203~212, 2013)

20 2012 年度輸入肥料等の品質調査結果について

独立行政法人農林水産消費安全技術センター 肥飼料安全検査部 調整指導官及び肥料管理課

1. はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC)では、肥料の品質保全等を図るため、農林水産大臣が定めた中期目標(2011年度からの5年間の目標)を実現するために、この目標に対応した中期計画及び各年度の実行計画を策定することにより、確実な肥料の品質保全等の実施に努めているところである。2011年度からの中期計画では、FAMICの立入検査を肥料生産事業場が行う品質管理状況の確認に重点化するとともに、輸入肥料も重点的に監視するため、その流通経路、輸入時期、輸入量等を把握することにより効率的な検査を行い、また、品質に関する情報も適宜得ることとしているところである。2011年度からは、これらのデータは品質管理に重要と考えられるため、肥料品質のモニタリング・サーベイランスと位置づけ、生産業者等へも適宜情報提供を行うこととされた。

さらに、近年、メラミン等の異物が混入された肥料が輸入された事例を受け、メラミンの試験方法を確立し、立入検査においても調査しているところである。

また、重金属の含有のおそれのある汚泥肥料については、特に品質管理の実施を求めているところである。更に、使用する原料汚泥についても、肥料の公定規格において「金属等を含む産業廃棄物に係る判定基準を定める省令別表第一の基準」¹⁾(以下、「判定基準」という)が規定されており、FAMICの検査においても必要に応じて適合調査を行っているところである。

2012年度についても、生産業者等の御協力により輸入された肥料や原料を調査できたのでその内容を報告する。

2. 調査項目及び調査方法

1) 輸入肥料の重金属含有量調査

(1) 調査対象

化成肥料(りん酸アンモニウムを原料とするもの)、指定配合肥料(輸入登録されたりん酸アンモニウムや有機質肥料を原料として配合した肥料)、副産肥料(肥料の種類に「副産」の字句が冠されている肥料)、有機質肥料

(2) 調査項目

ひ素、カドミウム、水銀、ニッケル、クロム及び鉛の6項目

(3) 調査方法

FAMICにおける検査品の収去規定により、対象品の袋在庫数量に応じてランダムに数袋を抽出し、各袋から数インクリメントを採取し、全インクリメントを混合、混合品から再度数インクリメントを採取し、ビニール袋に詰め密封する等により分析用試料とした。

分析方法は、肥料等試験法²⁾によった。

分析成績について、FAMIC における肥料分析検査成績(検出されたものの平均値)と比較した。

2) 有機質肥料の異物(メラミンを含む)調査

(1) 調査対象

輸入された植物質の有機質肥料。

(2) 調査項目

メラミン, アンモニア性窒素及び尿素性窒素。

(3) 調査方法

メラミン, アンモニア性窒素及び尿素性窒素について定性試験³⁾を実施し, 検出された場合には肥料等試験法²⁾により定量試験を実施して含有量を求めた。

3) 原料汚泥の溶出試験調査

(1) 調査対象

農林水産省の指示による汚泥肥料生産事業場への立入検査において, 汚泥肥料等の原料として使用される下水汚泥, し尿汚泥等。

(2) 調査項目

判定基準¹⁾にある項目のうち, アルキル水銀化合物, 有機燐化合物, ポリ塩化ビフェニル, シマジン, チオベンカルブ及びダイオキシン類以外の項目。

(3) 調査方法

環境庁告示「産業廃棄物に含まれる金属等の検定方法」⁴⁾に準拠した。なお, 判定基準は平成 18 年 12 月 15 日改正環境省令第 36 号を用いた。

4) 輸入液状複合肥料中の農薬の調査

(1) 調査対象

輸入された液状複合肥料。

(2) 調査項目

アバメクチン, イベルメクチン, エプリノメクチン, ピレトリン, ロテノン及びピペロニルブトキシドの 6 種類。

(3) 調査方法

肥料等試験法²⁾により実施した。

5) 牛ふんを使用した汚泥肥料中のクロピラリドの調査

(1) 調査対象

牛ふんを使用した汚泥発酵肥料。

(2) 調査項目

クロピラリド.

(3) 調査方法

肥料試験法²⁾により実施した.

3. 調査結果

1) 輸入肥料の重金属含有量調査

(1) 化成肥料, 配合肥料, 副産複合肥料

化成肥料 3 点, 配合肥料 1 点, 副産複合肥料 3 点の試料についての調査結果を表 1 に, また, 2003 年度から 2012 年度の 10 年間の化成肥料等の検査成績を表 2 に示した. 調査試料は, 登録された肥料のうち輸入肥料の占める割合が高い肥料, 過去に重金属が高濃度に検出された肥料, 品質が不安定と考えられる肥料から選定した. 特に, りん源は輸出国政策等により「りん鉱石」からりん鉱石を原料として生産された「りん酸アンモニウム」として輸入されることが多く, 輸入される化成肥料のほとんどを占めることから選定した. FAMIC における化成肥料の 10 年間で検出された検査成績の平均値と比較して高いものが, 化成肥料において, カドミウム(2 点), 水銀(1 点)及びニッケル(1 点)が見受けられた. この化成肥料のうち 1 試料はカドミウム, 水銀及びニッケルのいずれも高かった.

2012 年度の結果では, 重金属含有量が検査成績より高いものが認められたものの, いずれも化成肥料の公定規格に定める含有許容量以下であり, 異常と判断されるものはなかったが, 調査点数が少なく, 引き続きデータの集積が必要と考えられた.

(2) 有機質肥料

甲殻類質肥料粉末 1 点, 蒸製皮革粉 2 点, とうもろこしはい芽油かす及びその粉末 1 点, 乾燥菌体肥料 2 点の試料についての調査結果を表 1 に, また, 2003 年度から 2012 年度の 10 年間の有機質肥料の検査成績を表 2 に示した. FAMIC における有機質肥料の 10 年間で検出された検査成績の平均値と比較して高いものが, 甲殻類質肥料粉末においてひ素(1 点), 蒸製皮革粉においてクロム(2 点), 乾燥菌体肥料においてニッケル(2 点)が見受けられた.

2012 年度の結果では, 蒸製皮革粉 2 点ともに比較的クロムが高かったが, 皮をなめす際に使用されるクロム(クロムなめし)由来のものであることが窺われた. その他, 重金属含有量が検査成績より高いものが認められたものの, いずれも化成肥料の公定規格の含有許容量と比較して十分低い値であり, 異常と判断されるものはなかったが, 調査点数が少なく, 引き続きデータの集積が必要と考えられた.

(3) 指定配合肥料

調査した指定配合肥料(14 点)の結果を表 1 に示した. FAMIC における化成肥料の 10 年間の検出された検査成績の平均値と比較して高いものが, ひ素(2 点), ニッケル(1 点), クロム(5 点)が見受けられた. カドミウム, 水銀及び鉛についてはいずれも低かった. 原料に使用したりん酸アンモニウムの使用量との関連性は統計的に認められないが, 使用量が多くなるほど, ひ素及びカドミウムの含有量が高くなる傾向が窺えた. また, 原料に蒸

製皮革粉を使用した指定配合肥料はクロムが高い傾向にあることが窺えた。

2012 年度の結果では、重金属含有量が検査成績より高いものが認められたものの、いずれも化成肥料の公定規格に定める含有許容量以下であり、異常と判断されるものはなかったが、調査点数が少なく、引き続きデータの集積が必要と考えられた。

2) 有機質肥料の異物(メラミンを含む)調査

植物質の有機質肥料(1点)の結果を表3に示した。メラミン、アンモニア性窒素及び尿素性窒素は検出されなかった。

3) 原料汚泥の溶出試験調査

下水汚泥肥料(1点)、し尿汚泥肥料(2点)、工業汚泥肥料(1点)、焼成汚泥肥料(3点)及び汚泥発酵肥料(14点)に使用された原料汚泥の調査結果を表4に示した。いずれの原料汚泥も判定基準¹⁾に適合していた。

なお、FAMIC において当該調査は 2006 年度から開始しているが、これまでに判定基準を超えたものはなかった。

4) 輸入液状複合肥料中の農薬の調査

過去に混入が認められた事例から、混入の危険性の高い農薬成分として、アバメクチン、イベルメクチン、エブリンメクチン、ピレトリン、ロテノン及びピペロニルブトキシドの 6 種類を、液状複合肥料(2点)について、調査した。その結果、表5のとおり、いずれも定量下限未満であった。

5) 牛ふんを使用した汚泥肥料中の農薬の調査

海外において使用されたクロピラリドが残留した輸入粗飼料が牛に給与され、その牛ふん尿を使用した堆肥にクロピラリドが残留することにより、農作物への生育障害が発生した事例から、牛ふんを使用した汚泥発酵肥料(6点)について調査を行った。その結果、表6のとおり、いずれも定量下限未満であった。

表1 2012年度輸入肥料中の重金属含有量の調査結果

| 肥料の種類 | 重金属含有量 | | | | | | 使用原料 ¹⁾ | |
|------------------------|-----------------|--------------------|---------------|-----------------|----------------|--------------|--|-----------------------------|
| | ひ素 (mg/kg) | カドミウム (mg/kg) | 水銀 (mg/kg) | ニッケル (mg/kg) | クロム (mg/kg) | 鉛 (mg/kg) | りん安 ²⁾ (%) ³⁾ | 蒸製皮革 粉 (%) ³⁾ |
| 熔成りん肥 | — ⁴⁾ | 0.2 | — | — | — | — | | |
| 化成肥料 | 3.2 | 6.1 | — | 6 | 86 | — | | |
| 化成肥料 | 0.3 | N.D. ⁵⁾ | — | — | — | — | | |
| 化成肥料 | 2.7 | 15 | 0.20 | 31 | 59 | N.D. | | |
| 副産複合肥料 | 1.0 | N.D. | 0.10 | 2 | 26 | 5 | | |
| 副産複合肥料 | 0.2 | N.D. | 0.03 | 3 | 7 | 2 | | |
| 副産複合肥料 | 0.4 | N.D. | N.D. | 10 | 4 | N.D. | | |
| 配合肥料 | N.D. | N.D. | — | — | — | — | | |
| 甲殻類質肥料粉末 | 7.0 | 1.2 | 0.03 | 3 | 6 | N.D. | | |
| 蒸製皮革粉 | 1.4 | N.D. | 0.12 | 1 | 3100 | 2 | | |
| 蒸製皮革粉 | 0.3 | N.D. | 0.06 | 1 | 3400 | N.D. | | |
| とうもろこしはい芽油 かす及びその粉末 | N.D. | N.D. | 0.01 | N.D. | 2 | N.D. | | |
| 乾燥菌体肥料 | 1.0 | N.D. | 0.10 | 17 | 18 | 6 | | |
| 乾燥菌体肥料 | 0.9 | 0.2 | 0.07 | 43 | 210 | 5 | | |
| 指定配合肥料 | 1.0 | N.D. | N.D. | 3 | 8 | N.D. | 14 | 0 |
| 指定配合肥料 | 3.4 | 1.4 | N.D. | 5 | 26 | N.D. | 32 | 0 |
| 指定配合肥料 | 1.1 | 0.2 | 0.05 | 5 | 1100 | N.D. | 10 | 5 |
| 指定配合肥料 | 3.6 | N.D. | 0.05 | 3 | 7 | N.D. | 0 | 0 |
| 指定配合肥料 | 2.3 | 0.1 | 0.07 | 6 | 990 | 4 | 5 | 4 |
| 指定配合肥料 | 1.9 | 0.3 | 0.06 | 4 | 2300 | N.D. | 10 | 8 |
| 指定配合肥料 | 5.2 | 1.0 | 0.04 | 3 | 580 | N.D. | 18 | 0 |
| 指定配合肥料 | 6.5 | 1.1 | 0.01 | 34 | 63 | 3 | 7 | 0 |
| 指定配合肥料 | 2.5 | 0.5 | 0.07 | 14 | 2200 | N.D. | 8 | 0 |
| 指定配合肥料 | 2.2 | 0.2 | 0.02 | 16 | 19 | N.D. | 13 | 0 |
| 指定配合肥料 | 3.2 | 1.0 | 0.01 | 20 | 65 | 1 | 19 | 0 |
| 指定配合肥料 | 2.8 | 0.2 | 0.02 | 5 | 130 | 4 | 6 | 0 |
| 指定配合肥料 | 2.4 | 0.1 | 0.03 | 4 | 89 | 2 | 11 | 0 |
| 指定配合肥料 | 1.6 | 0.7 | N.D. | 9 | 25 | 2 | 4 | 0 |

1) 原料の使用割合

2) リン酸アンモニウム(化成肥料)

3) 質量分率

4) 調査未実施

5) 定量下限未満

表2 2003年度～2012年度FAMICの検査肥料中の重金属含有量の検査成績の基本統計量

| 重金属 | 統計量 | 単位 | 化成肥料 | 配合肥料 | その他の 複合肥料 ¹⁾ | 有機質肥料 |
|-------|-----|-------|------|------|----------------------------|-------|
| ひ素 | 標本数 | | 1943 | 183 | 157 | 56 |
| | 平均値 | mg/kg | 5.0 | 6.2 | 3.6 | 2.4 |
| | 中央値 | mg/kg | 3.8 | 4.7 | 3.0 | 1.4 |
| | 最低値 | mg/kg | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | 最高値 | mg/kg | 250 | 39 | 15 | 8.1 |
| カドミウム | 標本数 | | 1886 | 150 | 128 | 46 |
| | 平均値 | mg/kg | 1.7 | 1.8 | 1.3 | 7.0 |
| | 中央値 | mg/kg | 1.4 | 1.7 | 1.0 | 0.4 |
| | 最低値 | mg/kg | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| | 最高値 | mg/kg | 35 | 5.4 | 4.9 | 46 |
| 水銀 | 標本数 | | 132 | 14 | 18 | 37 |
| | 平均値 | mg/kg | 0.14 | 0.55 | 0.16 | 0.16 |
| | 中央値 | mg/kg | 0.07 | 0.07 | 0.10 | 0.06 |
| | 最低値 | mg/kg | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| | 最高値 | mg/kg | 1.7 | 3.1 | 0.52 | 1.5 |
| ニッケル | 標本数 | | 1016 | 73 | 79 | 31 |
| | 平均値 | mg/kg | 21 | 25 | 15 | 10 |
| | 中央値 | mg/kg | 9 | 8 | 11 | 9 |
| | 最低値 | mg/kg | 1 | 1 | 3 | 1 |
| | 最高値 | mg/kg | 580 | 420 | 120 | 43 |
| クロム | 標本数 | | 1050 | 65 | 77 | 27 |
| | 平均値 | mg/kg | 280 | 95 | 48 | 260 |
| | 中央値 | mg/kg | 38 | 41 | 30 | 9 |
| | 最低値 | mg/kg | 1 | 1 | 4 | 2 |
| | 最高値 | mg/kg | 6300 | 1900 | 850 | 3400 |
| 鉛 | 標本数 | | 238 | 16 | 23 | 30 |
| | 平均値 | mg/kg | 5 | 3 | 4 | 7 |
| | 中央値 | mg/kg | 2 | 3 | 5 | 3 |
| | 最低値 | mg/kg | 0.1 | 1 | 1 | 1 |
| | 最高値 | mg/kg | 340 | 11 | 7 | 70 |

1) 液状複合肥料を除く

表3 2012年度輸入肥料(有機質肥料)中の異物の調査結果¹⁾

| 肥料の種類 | メラミン | AN ²⁾ | UN ³⁾ |
|--------------|------|------------------|------------------|
| なたね油かす及びその粉末 | 不検出 | 不検出 | 不検出 |

1) 定性試験

2) アンモニア性窒素

3) 尿素性窒素

表4 2012年度原料汚泥の溶出試験結果¹⁾

| 使用された汚泥肥料の種類 | 試験結果 |
|--------------|------------------|
| 下水汚泥肥料 | 適合 ²⁾ |
| し尿汚泥肥料 | 適合 |
| し尿汚泥肥料 | 適合 |
| 工業汚泥肥料 | 適合 |
| 焼成汚泥肥料 | 適合 |
| 焼成汚泥肥料 | 適合 |
| 焼成汚泥肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |
| 汚泥発酵肥料 | 適合 |

- 1) 産業廃棄物に含まれる金属等の検定方法(昭和48年2月17日環境庁告示第13号)に準拠
- 2) 金属等を含む産業廃棄物に係る判定基準を定める省令の別表第1の基準(昭和48年2月17日総理府令第5号)により判定

表5 2012年度輸入液状複合肥料中の農薬の調査結果

| 肥料の種類 | アバメクチン | イベルメクチン | エプリノメクチン | ロテノン |
|--------|--------------------|------------|-------------|------|
| | アバメクチンB1a | イベルメクチンB1a | エプリノメクチンB1a | |
| 液状複合肥料 | N.D. ¹⁾ | N.D. | N.D. | N.D. |
| 液状複合肥料 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |

1) 定量下限未満

表5 (続き)

| 肥料の種類 | ピペロニル ブトキシド | ピレトリン | |
|--------|----------------|---------|----------|
| | | ピレトリン I | ピレトリン II |
| 液状複合肥料 | N.D. | N.D. | N.D. |
| 液状複合肥料 | N.D. | N.D. | N.D. |

表6 2012年度牛ふんを使用した汚泥肥料中のクロピラリドの調査結果

| 肥料の種類 | クロピラリド |
|--------|--------------------|
| 汚泥発酵肥料 | N.D. ¹⁾ |
| 汚泥発酵肥料 | N.D. |
| 汚泥発酵肥料 | N.D. |
| 汚泥発酵肥料 | N.D. |
| 汚泥発酵肥料 | N.D. |
| 汚泥発酵肥料 | N.D. |

1) 定量下限未満

文 献

- 1) 総理府令:金属等を含む産業廃棄物に係る判定基準を定める省令, 昭和 48 年 2 月 17 日総理府令第 5 号, 最終改正平成 25 年 2 月 21 日環境省令第 3 号 (2013)
- 2) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法
<<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):副産植物質肥料等中のメラミン及びシアヌル酸の定性試験法 <<http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html>>
- 4) 環境庁告示:産業廃棄物に含まれる金属等の検定方法, 昭和 48 年 2 月 17 日環境庁告示第 13 号, 最終改正平成 25 年 2 月 21 日環境省告示 9 号 (2013)

肥料研究報告編集委員

委員長 片山 信浩

副委員長 大橋 史郎

阿部 文浩

白井 裕治

加島 信一

引地 典雄

工藤 尚史

福本 裕二

久保 明

八木 寿治

肥料研究報告 第6号

発行 独立行政法人農林水産消費安全技術センター
埼玉県さいたま市中央区新都心2番地1
さいたま新都心合同庁舎検査棟

TEL 050-3797-1856

FAX 048-601-1179

<http://www.famic.go.jp/>

平成25年11月

編集 肥料研究報告編集委員会

印刷 名取印刷工業有限会社
東京都新宿区新小川町7-11
TEL 03-3260-4767

リサイクル適性 (A)

この印刷物は、印刷用の紙へ
リサイクルできます。